

Roland Reuff

ZUR FRAGE DES
EXPERIMENTELLEN LATHYRISMUS

Frankfurt am Main 1965

1966



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546413_0040

Druck: Bildstelle der J.W. Goethe-Universität
Frankfurt a. M.

Aus dem Universitätsinstitut für Therapeutische Biochemie

Direktor: Professor Dr. A. Wacker

ZUR FRAGE DES EXPERIMENTELLEN LATHYRISMUS

Festigkeitsmessungen am Binde- und Stütz-
gewebe nach Behandlung mit lathyrogenen
Nitrilen und der Kombination mit Hormonen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des

Doktorgrades

der gesamten Medizin

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Johann-Wolfgang-Goethe-Universität

zu Frankfurt am Main

vorgelegt von

Roland Reuff

aus Frankfurt am Main

1965



Dekan:	Prof. Dr. med. O. Käser
Referent:	Prof. Dr. rer. nat. A. Wacker
Korreferent:	Prof. Dr. med. E. Pfeiffer

Mündliche Prüfung: 15. Nov. 1965

ZUR FRAGE DES EXPERIMENTELLEN LATHYRISMUS

Festigkeitsmessungen am Binde- und Stütz-
gewebe nach Behandlung mit lathyrogenen
Nitrilen und der Kombination mit Hormonen

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

A) Spontan auftretende Formen des Lathyrismus	
1) Lathyrismus beim Menschen	5
2) Lathyrismus bei Tieren	6
B) Experimentelle Formen des Lathyrismus	
1) Reproduzierbarkeit des Lathyrismus im Experiment	7
2) Abgrenzung Neurolathyrismus - Osteolathyrismus .	7
3) Isolierung lathyrogener Substanzen	8
4) Eine durch β, β' -Iminodipropionitril auslösbare Form des Neurolathyrismus: das ECC-Syndrom	9
C) Das Krankheitsbild des Osteolathyrismus	
1) Veränderungen am Skelettsystem	10
2) Veränderungen am Gefäßsystem	12
D) Frühere Funktionsprüfungen	14
E) Problemstellung	15

II. MATERIAL UND METHODEN

A) Substanzen	16
B) Tiermaterial	17
C) Voroperationen	
1) Adrenalektomie	17
2) Thyreoparathyreoidektomie	18
D) Festigkeitsmessungen	
1) Distale Femurepiphysenfuge der Ratte	19
2) Isolierte Rattenschwanzsehne	19
3) Aortenringe der Ratte	23
E) Statistische Auswertung	23

III. ERGEBNISSE

A) Reißversuche an der Femurepiphysenfuge

1) Dosenwirkungsbeziehungen

a) Aminoacetonitril (AAN)	24
b) Methylaminoacetonitril (MAAN)	27
c) Iminodipropionitril (IDPN)	30

2) Zeitwirkungsbeziehungen

a) AAN	33
b) MAAN	34
c) IDPN	34

3) Gegenüberstellung gleicher Dosen der drei geprüften Nitrile

a) nach 24 Stunden	38
b) nach 120 Stunden	38

4) Beeinflussung der Belastungsgrenze durch gleichzeitig mit lathyrogenen Substanzen verabfolgte Hormone und durch Entfernung innersekretorischer Drüsen

a) STH	43
b) Einfluß von Corticosteroiden und von Adrenalektomie	
) Prednisolonacetat	43
) Adrenalektomie	52
c) Einfluß von Schilddrüsenhormonen und von Thyreoparathyreoidektomie	
) l-Trijodthyronin	56
) Thyreoparathyreoidektomie	56

B) Reißversuche an der isolierten Rattenschwanzsehne

59

C) Reißversuche an Aortenringen

a) AAN	67
b) MAAN	67
c) IDPN	67

IV. DISKUSSION

- A) Gegenüberstellung morphologischer und klinischer Veränderungen beim Lathyrismus mit den Ergebnissen nach physikalisch-mechanischen Untersuchungen
 - 1) Femurepiphysenfuge 68
 - 2) Isolierte Rattenschwanzsehne 69
 - 3) Aortenringe 70
- B) Beeinflussung lathyrogener Substanzen durch Hormone
 - 1) STH 71
 - 2) Prednisolonacetat und Adrenalektomie 71
 - 3) l-Trijodthyronin und Thyreoparathyreoidektomie. 73
- C) Wirkungsmechanismus der lathyrogenen Substanzen
 - 1) Befunde am Kollagen 75
 - 2) Veränderungen an der Grundsubstanz des Bindegewebes beim experimentellen Lathyrismus 78
 - 3) Unsere Befunde im Hinblick auf die gestörte Kollagenreifung beim experimentellen Lathyrismus 80

V. ZUSAMMENFASSUNG 82

VI. LITERATURVERZEICHNIS 84

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

A) Spontan auftretende Formen des Lathyrismus

1) Lathyrismus beim Menschen

Die Lathyrismus-Erkrankung des Menschen wird durch den Genuß großer Mengen (ein drittel oder mehr der gesamten Nahrung) von verschiedenen Hülsenfrüchten, die zur Lathyrusgattung gehören, verursacht. Das klinische Erscheinungsbild (STOCKMAN, 1929) ist nach einem kurzen Prodromalstadium, in dem Schmerzen, Prickeln und Krämpfe auftreten können, durch eine Schwäche der unteren Gliedmaßen gekennzeichnet, die bis zu dem Bild einer völligen Spastizität und Rigidität der Beinmuskulatur fortschreiten kann. Die Gangart wird schon in den weniger ausgeprägten Stadien verkrampft, die Schritte werden kurz und der Patient versucht, auf den Fußballen zu gehen, wobei die Knie leicht gebeugt bleiben. In extremen Fällen ist nur noch eine kriechende Fortbewegung möglich. Prickeln, aufzuckende Schmerzen, Schmerzen in der Hüftgegend, Verschwinden des Tastsinnes, völliger Verlust für Hitze- und Schmerzgefühl und Muskelschwund wurden beobachtet. Am häufigsten sind junge, erwachsene Männer von der Krankheit befallen. Nachtblindheit soll ebenfalls zu dem Syndrom des Lathyrismus gehören (YOUNG, 1927).

SELYE (1957 b) gibt in seinem Überblick über den Lathyrismus auch eine Darstellung der Geschichte des Lathyrismus des Nervensystems, demzufolge nach DON (1831) die erste definierte Erwähnung von Lathyrusfrüchten als giftiges Nahrungsmittel in einem Edikt des Herzogs von Württemberg aus dem Jahre 1671 enthalten ist, das die Verwendung von Mehl aus Lathyrus-samen beim Brotbacken verbot, da man dem Mehl einen lähmenden Einfluß auf die Beine zuschrieb. Im 17. und 18. Jahrhundert wurden verschiedene Ausbrüche des Lathyrismus in Frankreich, Deutschland, Italien und Algerien beobachtet (SHOURIE, 1945). Die Erkrankung war in den einzelnen Ländern unter verschiedenen Bezeichnungen bekannt, bis CANTANI (1873)

den Namen Lathyrismus einführte, der heute allgemein gebraucht wird.

Bei dem Versuch, die Ätiologie des Lathyrismus zu erforschen, wurden schon sehr früh verschiedene Krankheitsursachen angeführt, die jedoch alle nicht genügend fundiert sind: Mangel an Vitamin A oder B-Vitaminen (GEIGER et al., 1933), eine Virusinfektion, eventuell in Verbindung mit unzureichender Ernährung, Selenium als das toxische Prinzip u.a. So ist es bis heute noch umstritten, welche Faktoren neben der übermäßigen Zufuhr von Hülsenfrüchten für das Auftreten des klinischen Bildes des Lathyrismus verantwortlich sind (STRONG, 1956, SELYE, 1957 b).

Die zu der Familie der Leguminosen gehörenden Lathyrusarten wachsen auch unter sehr ungünstigen Bedingungen und werden von großen Bevölkerungsschichten in Indien und Algerien und weniger verbreitet in Frankreich, Italien, Spanien und anderen Ländern als Nahrungsmittel verwendet (STRONG, 1956). Sehr reichlicher Genuß der Hülsenfrüchte, wenn z.B. während einer Hungersnot zu wenig Getreide zur Verfügung steht, führte vor allem in Indien zu ausgedehnten Epidemien des Lathyrismus. YOUNG (1927) fand bei seinen Untersuchungen in indischen Dörfern, daß etwa 7% der Bevölkerung an dieser Krankheit litten.

2) Lathyrismus bei Tieren

Neben dem Lathyrismus des Menschen, der hauptsächlich durch drei Lathyrusarten verursacht wird: Lathyrus sativus ("Saat-Platterbse"), L. cicera ("Rote Platterbse", "Rote Kicher") und L. clymenum ("Spanische Platterbse"), fand man dort, wo Lathyrusepidemien auftraten, auch bei verschiedenen Haustieren, wie z.B. Rindern und Pferden, wenn das Futter zu einem großen Teil aus Lathyruspflanzen bestand, eine ähnliche Erkrankung. Obgleich die meisten Tierarten Vergiftungserscheinungen nach der Verfütterung von verschiedenen Lathyruspflanzen zeigen, ist der Grad der Empfänglichkeit doch sehr verschieden. Bei Pferden, die besonders empfind-

lich sind, entwickelt sich zuerst eine Schwäche in der Rückenmuskulatur, und die Tiere geben ein eigenartiges Geräusch von sich, das auf eine Lähmung des Nervus recurrens zurückzuführen ist. In manchen Fällen tritt eine allgemeine Lähmung ein (LEATHER und SONS, 1885, BOULEY, 1883).

B) Experimentelle Formen des Lathyrismus

1) Reproduzierbarkeit des Lathyrismus im Experiment

Die Symptome des menschlichen Lathyrismus konnten im Experiment reproduziert werden und sind vor allem bei Affen sehr gut untersucht. STOCKMAN (1917) fand, daß *L. sativus* bei Affen die Symptome des Lathyrismus hervorruft, vor allem Lähmungserscheinungen und Muskelspasmus. Allerdings sah er hier noch keine histologischen Veränderungen, die jedoch später von STOCKMAN und JOHNSTON (1933) als pellagraähnliche Veränderungen - ausgebreitete Degeneration von Nervenfasern und Zerstörung von Nervenzellen sowohl im cerebrospinalen als auch im sympathischen System - beschrieben worden sind, wobei jedoch nur gerade erwähnt wurde, daß die Veränderungen beim Lathyrismus die gleichen sind. Ähnliche klinische und morphologische Veränderungen bei Affen konnten auch durch Verfütterung von Hülsenfrüchten, die nicht zur Lathyrusgattung gehören, ausgelöst werden: *Ervum lens*, *Soya hispida*, *Vicia sativa*, *Ervum ervilia* und *Pisum sativum* (SELYE, 1957 b).

2) Abgrenzung Neurolathyrismus - Osteolathyrismus

Mit den oben genannten Lathyrusarten, die beim Menschen Lathyrismus verursachen, konnte man bei der Ratte kein ähnliches Krankheitsbild erzeugen. Dagegen fanden GEIGER et al. (1933), daß *Lathyrus odoratus* ("Wohlriechende Platterbse") bei Verfütterung an Ratten ein völlig neues Syndrom verursacht, welches nur das mesenchymale Gewebe betrifft, ohne direkte krankhafte Erscheinungen am Nervensystem zu zeigen. Zur Unterscheidung gegenüber dem Lathyrismus des Nerven-

systems, der auch als Neurolathyrismus bezeichnet wird, nennt SELYE die Erkrankung des mesenchymalen Gewebes, die am deutlichsten am Skelettsystem in Erscheinung tritt, Osteolathyrismus. Das Krankheitsbild ist durch degenerative Veränderungen der Gelenkknorpel, Exostosen und Hamorrhagien gekennzeichnet. Obgleich sich die Symptome des Osteolathyrismus eindeutig von denen des Neurolathyrismus unterscheiden, konnte sich ein Vorschlag von VIVANCO und JIMÉNEZ-DIAZ (1951), die von *Lathyrus odoratus* verursachte Erkrankung des Mesenchyms "Odoratismus" zu nennen, nicht durchsetzen.

SELYE (1957) gibt eine Übersicht über die Pflanzen, die eine lathyrogene Wirkung in einer der beiden oben genannten Formen zeige und die Symptome, welche die Pflanzen bei den einzelnen Tierarten auslösen. *Lathyrus odoratus* verursacht vor allem bei der Ratte hauptsächlich (wenn nicht ausschließlich) osteolathyrogene Veränderungen. Ob diese Leguminose auch für den Menschen pathogen ist, ist nicht sicher bekannt. *Lathyrus sativus*, *L. cicera*, *L. clymenum*, *L. latifolius*, *L. splendens*, *L. silvestris* und *L. sphericus* scheinen nur Neurolathyrismus beim Menschen und bei Tieren zu verursachen, während *L. pusillus*, *L. hirsutus* und *L. tingitanus* sowohl Veränderungen am Skelett- als auch am Nervensystem verursachen (LEWIS et al. 1948).

3) Isolierung lathyrogener Substanzen

Während es noch nicht gelang, eine Substanz zu finden, die für das Auftreten des Lathyrismus beim Menschen verantwortlich gemacht werden kann, konnten DUPUY und LEE (1954) eine aktive kristalline Substanz aus *Lathyrus pusillus* isolieren. Dieser Entdeckung folgte die Isolation einer sehr ähnlichen Verbindung aus *Lathyrus odoratus* durch MCKAY et al. (1954), die durch SCHILLING und STRONG (1954 und 1955) als Beta-(N-gamma-L-glutamyl)-aminopropionitril charakterisiert werden konnte. Nach dem Bekanntwerden der Strukturformel fanden zur gleichen Zeit DASLER (1954) und WAWZONEK,

PONSETI et al. (1955), daß der Gamma-glutamyl-Rest nicht essentiell ist und daß der aktive Teil des Moleküls durch Beta-aminopropionitril (BAPN) dargestellt wird, das bei Zusatz von 0,1 bis 0,2 % zur Nahrung ebenso wie *Lathyrus odoratus* Osteolathyrismus verursacht. GARBUTT und STRONG (1955) entwickelten eine empirische chemische Methode für die Bestimmung von Beta-aminopropionitril in biologischem Material. Mit dieser Methode, die auf der Entstehung einer grünen Farbe mit Ninhydrin beruht, wurden die Samen zahlreicher Hülsenfrüchte untersucht. In *Lathyrus odoratus*, *L. pusillus* und *L. hirsutus* wurde die Substanz gefunden, während *L. sativus*, *L. cicera*, *L. latifolius*, *L. strictus*, *L. splendens* und verschiedene andere Hülsenfrüchte, die normalerweise für Mensch und Tier als Nahrungsmittel dienen, frei davon waren.

Bei Versuchen mit Beta-aminopropionitril-ähnlichen Verbindungen wurde gefunden, daß die synthetischen Substanzen Aminoacetonitril (AAN) (CHANG et al., 1955, WAWZONEK et al., 1955) und Methylaminoacetonitril (MAAN) (PONSETI et al., 1956) bei Ratten ebenfalls Osteolathyrismus erzeugen. SELYE, H. (1957) fand nach Applikation von Aminoacetonitril auch bei Meerschweinchen, Katzen, Hunden, Kaninchen, Hamstern und Rhesusaffen Veränderungen des Mesenchyms, wie sie beim Osteolathyrismus auftreten. Das gleiche konnte BARNETT (1957) für den Truthahn und CHANG et al. (1955) für Hähne, Frösche und Wassermolche nachweisen.

4) Eine durch β,β' -Iminodipropionitril auslösbare Form des Neurolathyrismus: das ECC-Syndrom

Das ebenfalls synthetische β,β' -Iminodipropionitril, das nur geringe osteolathyrogene Eigenschaften zeigt (BACHHUBER et al., 1955), verursacht bei Ratten ein auffälliges Krankheitsbild des Nervensystems (STAMLER, 1955), das in seiner Symptomatik nicht mit dem von *Lathyrus sativus* erzeugten Neurolathyrismus übereinstimmt. Dieses sog. ECC-Syndrom ("excitation, choreiform and circling movements"), das bei Anwendung von 200 mg/kg täglich nach etwa einer Woche ent-

steht, konnte außer bei Ratten noch bei verschiedenen anderen Tieren, wie Mäusen, Meerschweinchen, Hamstern, Kaninchen, Vögeln, Fischen, Katzen, Hunden und Affen nachgewiesen werden (HARTMANN und STICH, 1957, SELYE, 1957 b).

Mit Iminodipropionitril (IDPN) behandelte Ratten, die man durch Berührung stört, springen hoch und bewegen sich beim Laufen in engen kreisförmigen Figuren. Die Bewegungen der Ratten erscheinen unkoordiniert und planlos. Während gesunde Ratten, die man in ein Gefäß mit Wasser setzt, ruhig schwimmen und die Wand des Gefäßes zu erklimmen versuchen, vollführen die mit IDPN vergifteten Tiere völlig ungeordnete, wilde Bewegungen, die sie sogar zeitweilig unter die Wasseroberfläche bringen.

Histologisch wurden degenerative Veränderungen an den Vorderhornzellen des Rückenmarks und den Purkinjezellen des Kleinhirns gefunden (BACHHUBER, 1955).

C) Das Krankheitsbild des Osteolathyrismus

1) Veränderungen am Skelettsystem

GEIGER et al. (1933) beschrieben als erste die Erscheinungen am Skelettsystem bei Osteolathyrismus, die sowohl von *Lathyrus odoratus*, dem aus dieser Pflanze gewonnenen toxischen Prinzip, Beta-aminopropionitril, als auch von den synthetischen Nitrilen Aminoacetonitril (AAN) und Methylaminoacetonitril (MAAN) ausgelöst werden. Inzwischen wurden zahlreiche Arbeiten über diese Erkrankung, die vor allem bei jungen Tieren leicht zu erzeugen ist, veröffentlicht. SELYE (1957 b) gibt eine zusammenfassende Beschreibung des Osteolathyrismus. Bei dieser Erkrankung werden keine histologisch erfaßbaren Veränderungen des Nervensystems gefunden. Nach täglich 100 mg/kg AAN findet man bei etwa 100 g schweren Ratten die ersten klinischen Zeichen nach etwa einer Woche, zu welchem Zeitpunkt die Tiere einen eigenartig watschelnden Gang zeigen. Die ersten palpatorischen Befunde sind an

der Mandibula und in der Gegend des Kniegelenkes zu erheben, wo sich die Muskelansatzstellen der Knochen verdicken. Einige Tage später sind auch an anderen Stellen der Gliedmaßen Verdickungen zu tasten. Während der dritten und vierten Woche kommen Deformitäten des gesamten Skelettsystems dazu, wobei eine Kyphoskoliose der Wirbelsäule und eine Schwellung der distalen Enden der Metatarsalknochen besonders imponieren. Im fortgeschrittenen Stadium des Osteolathyrismus nimmt die Verunstaltung der langen Röhrenknochen so weit zu, daß sie beim Betasten wie Keulen erscheinen. Der Schwanz ist dann ständig in Spiralen gekrümmt, oft an einigen Stellen geknickt und kann nicht durch Zug gestreckt werden.

Manchmal sind die Hinterbeine teilweise oder völlig gelähmt, und es besteht eine stark erhöhte Reflexerregbarkeit. Diese Erscheinungen sind jedoch durch den Druck der deformierten Wirbelsäule auf das Rückenmark bedingt und entstehen nicht durch eine primäre Wirkung auf das Nervensystem. Oft findet sich auch ein gesteigertes bogenförmiges Wachstum der vorderen Schneidezähne, was jedoch wohl zum Teil ebenfalls eine sekundäre Wirkung darstellt, da durch die Veränderungen im Kiefergelenk die normale Abnutzung der Kauflächen der Zähne herabgesetzt ist. Bei der Autopsie zeigen sich die Knochen verdickt, äußerst zerbrechlich und weich. Überall am Skelett besonders aber an den Stellen, wo Sehnen inserieren, findet man Knochenproliferation. Im Periost finden sich multiple Hämatome, die am Os occipitale und an den Mandibularknochen am zahlreichsten sind. Spontane Frakturen kommen am häufigsten an den Rippen vor. Die Epiphysenknorpel sind vergrößert und teilweise verflüssigt, so daß man die Epiphyse leicht von der Diaphyse abtrennen kann.

In den chronischen Stadien des experimentellen Osteolathyrismus, nach etwa 3 Monaten, sind die in ihrem Längenwachstum gehemmten Röhrenknochen völlig deformiert. Die Epiphysenknorpelplatten sind in Dicke und Breite stark vergrößert, fibrillär verändert und teilweise aufgelöst. Die Markhöhle

ist erweitert, da die periostale Knochenauflagerung von einer gleichzeitigen endostalen Knochenresorption begleitet ist. Die Kyphose und Skoliose der Wirbelsäule sind von Exostosen der Wirbel, degenerativer Arthritis der Zwischenwirbelgelenke und Degeneration der Intervertebralscheiben begleitet.

Histologisch findet man besonders an den Muskelansatzstellen eine Proliferation des Periostes und Umwandlung des proliferierten periostalen Bindegewebes in Knorpel oder spongiöses Knochenmaterial. Die Zellen der Epiphysenknorpel sind aufgequollen, und die Ordnung in parallele Reihen ist gestört. Die Verkalkung ist geringer ausgeprägt als bei den Vergleichstieren. Besonders charakteristisch sind kleine, gerade sichtbare basophile Körnchen, die mit den Ausläufern der Osteozyten in Zusammenhang stehen und die vor allem im neugeformten Knochen und Knorpel vorkommen.

Bei älteren Tieren, oder wenn man geringere Mengen von lathyrogenen Substanzen verabfolgt, entwickelt sich ein weniger akutes Krankheitsbild, bei dem neugebildetes periostales Bindegewebe und Knorpelgewebe nicht so sehr ins Auge fällt, da die Ossifikation mit der Proliferation dieser Gewebe schritthält.

Die völlige Verformung der Röhrenknochen in den chronischen Stadien des Osteolathyrismus nach mehr als dreimonatiger Behandlungsdauer beruht auf verschiedenen Faktoren: 1) der Epiphysenknorpel ist vergrößert und zeigt degenerative Veränderungen; 2) die Markhöhle ist beträchtlich erweitert, da gleichzeitig mit der periostalen Knochenanlagerung eine endostale Knochenresorption stattfindet, bei der zahlreiche Osteoklasten auftreten; 3) das Längenwachstum der Röhrenknochen ist vermindert.

2) Veränderungen am Gefäßsystem

Außer den Erscheinungen am Skelettsystem gehört zu den auffallendsten Symptomen des Osteolathyrismus das Auftreten von

Hernien und Veränderungen am Gefäßbindegewebe, die von RONSETI und BAIRD (1952) nach Fütterung einer 50prozentigen Lathyrus-odoratus-Diät bei jungen Ratten beobachtet wurden. Die Autoren fanden häufig dissezierende Aortenaneurysmen im thorakalen Teil der Aorta, wobei sie bei histologischen Untersuchungen des Aortengewebes im Anfangsstadium der Erkrankung keine Veränderungen der elastischen Fasern feststellten. CHURCHILL et al. (1955) und WALKER und WIRTSCHAFTER (1956) fanden dagegen bei ihren Versuchen mit 3 Wochen alten entwöhnten Ratten, die 3 - 6 Wochen lang Lathyrus odoratus erhielten, in allen Teilen der Aorta (also auch in der Aorta abdominalis) Aneurysmen. Außerdem wurde eine Abnahme der Anzahl und Größe der elastischen Fasern festgestellt.

Die degenerativen Veränderungen am Bindegewebe der Aorta führen zu einem lokalen Ödem und Schädigung der elastischen Membranen unter dem Einfluß des Blutes, das unter Druck die Gefäßwand infiltriert. Die Veränderungen können zu massiven Blutungen in die Thoraxhöhle und damit zum Tod der Versuchstiere führen. Die Aneurysmen treten bei jungen Ratten außer nach Fütterung von Samen von Lathyrus odoratus auch nach Behandlung mit Beta-aminopropionitril (BAPN) und Aminoacetonitril (AAN) auf, wurden aber niemals bei jungen mit AAN behandelten Katzen, Hunden, Hamstern, Affen oder Meer-schweinchen beobachtet (SELYE, 1957 b).

Histochemische Untersuchungen zeigen, daß neben Ödemen und Hamorrhagien, die der Entstehung von Aortenaneurysmen bei Ratten vorausgehen, eine verstärkte Metachromasie und Degeneration der elastischen Fasern vorhanden waren. Obgleich Aneurysmen nur in der Aorta beobachtet werden, findet man Degenerationen der elastischen Fasern und Fibroblastenproliferation ebenso in den Pulmonar- und Coronararterien von Ratten, die mit Lathyrus odoratus gefüttert wurden. Die multiplen Hamorrhagien bei Tieren, die sehr hohe Dosen von lathyrogenen Nitrilen erhielten, sind vielleicht ebenso auf solche Gefäßschäden zurückzuführen.

D) Frühere Funktionsprüfungen

In kleinerem Umfange wurden schon früher im Rahmen des Problems des Lathyrismus physikalisch-mechanische Prüfungen an Geweben vorgenommen. BELL und SCHARMA (1960) stellten unter β -Aminopropionitril eine verminderte Bruchfestigkeit des Rattenfemurs fest. Mit der gleichen Methode untersuchte KHOGLI (1961) den Einfluß von Trijothyronin auf die Wirkung von β -Aminopropionitril. Dosen- und Zeitwirkungskurven wurden bei diesen beiden Arbeiten nicht aufgestellt.

GROSS et al. (1960) benutzten Embryonen von Hühnern als Versuchsmodell. Die Wirkung verschiedener lathyrogener Substanzen auf die Zerreißbarkeit wurde durch Messen der Kraft bestimmt, die benötigt wurde, um den Kopf der Hühnerkeime vom Körper abzureißen. Dosiswirkungskurven dieser Reißfestigkeitsprüfung, bei der ganz verschiedene Gewebe gleichzeitig untersucht werden, liegen vor.

LYKKE (1960) fand bei 3 Wochen alten Mäusen unter 5 mg β -Aminopropionitril taglich nach einer Behandlungszeit von 21 Tagen eine signifikante Senkung der Reißfestigkeit der Aorta. Bei den Untersuchungen von LEVENE und GROSS (1959) und LEVENE (1961) zeigte sich eine Minderung der Belastungsgrenze von Aorten von Hühnerembryonen unter 10 mg/kg β -Aminopropionitril schon nach 48 Stunden.

Sowohl Aminoacetonitril als auch β -Aminopropionitril bewirkten bei den Untersuchungen von VILJANTO (1962) eine Verringerung der Zugfestigkeit von experimentellem Granulationsgewebe.

TRNAVSKÁ und TRNAVSKY (1963) zeigten, daß beim experimentellen Lathyrismus eine Änderung der chemischen Kontraktion und Erschlaffung der Rattenschwanzsenne in 2,5 molarer Natriumperchloratlösung eintritt.

E) Problemstellung

Die morphologischen Veränderungen beim experimentellen Lathyrismus sind in vieler Hinsicht den Erscheinungen am Skelettsystem des Menschen ähnlich, wie sie im Verlauf der degenerativen Erkrankungen auftreten (STRONG, 1956). Hierzu gehören Epiphysiolyse, idiopathische Skoliose, Paget's Krankheit, Degenerative Arthritis, Ferthes'sche Krankheit (PONSETI und SHEPARD, 1954) und Osteogenesis imperfecta (CLEMMONS und ANGEVINE, 1957). Man hat mit den osteolathyrogenen Nitrilen zum erstenmal eine Substanz, mit der man experimentell analoge Symptome bei Tieren hervorrufen kann. Da der Osteolathyrismus im Experiment durch verschiedene Substanzen zu beeinflussen ist, kann man prüfen, in welchem Maße er als Modellerkrankung brauchbar ist.

Von THER, SCHRAMM und VOGEL (1963) wurde eine einfache Methode der funktionellen Prüfung des Bindegewebes angegeben, indem man die Reißfestigkeit der distalen Epiphysenfuge des Rattenfemur mißt. In mehreren Arbeiten wurde gezeigt (VOGEL und THER 1963 a und b, VOGEL 1964, VOGEL und THER 1964), daß verschiedene Hormone sowohl die Bruchfestigkeit von Knochen als auch die Reißfestigkeit der distalen Femurepiphysenfuge an Ratten und die Festigkeit der isolierten Rattenschwanzsehne beeinflussen.

In der vorliegenden Arbeit sollen folgende Fragen untersucht werden:

- 1) Läßt sich der Einfluß lathyrogener Substanzen an der Festigkeit des Bindegewebes messen?
- 2) Sind diese Festigkeitsänderungen dosisabhängig?
- 3) Wann tritt im Laufe einer Behandlung erstmalig eine meßbare Veränderung auf?
- 4) Bestehen quantitative Unterschiede zwischen den einzelnen lathyrogenen Substanzen?
- 5) Lassen sich die durch lathyrogene Substanzen erzeugten Veränderungen durch gleichzeitige Verabreichung von Hormonen oder durch Entfernung endokriner Drüsen modifizieren?

II. MATERIAL UND METHODEN

A) Substanzen

Bei unseren Untersuchungen wurden folgende 3 Nitrile als lathyrogene Substanzen angewendet (bezogen von der Firma Dr. Theodor Schuchardt, München):

Aminoacetonitril-bisulfat (AAN),

Methylaminoacetonitril-bisulfat (MAAN),

β,β' -Iminodipropionitril-bisulfat (IDPN).

In unseren Versuchen legten wir das Schergewicht auf AAN, das von den synthetischen lathyrogenen Nitrilen in morphologischer Hinsicht am besten untersucht ist. Als Tragersubstanz diente eine Tyloselösung, zu deren Herstellung 2 Teile mit 100 Teilen Wasser angesetzt wurden. Vor der Verabfolgung der Nitrile wurden diese mit Tylose in einem Mörser angerührt und soweit verdünnt, daß jeweils 0,5 ml Tyloselösung die gewünschte Menge eines Nitrils für 100 g Tiergewicht enthielten. Die Applikation erfolgte mit einer Schlundsonde 1 mal täglich während der jeweiligen Versuchsdauer.

Der Versuchsplan wurde nach folgendem Schema aufgestellt:

- a) 24 Stundenwert: Festigkeitsprüfung 24 Stunden nach einmaliger Applikation
- b) 48 Stundenwert: Fütterung am 1. und 2. Tag, Festigkeitsprüfungen 48 Stunden nach der ersten Applikation
- c) 120 Stundenwert: Tägliche Sondierung vom 1. bis 5. Tag, Festigkeitsprüfung 120 Stunden nach der ersten Applikation
- d) 240 Stundenwert: Tägliche Sondierung vom 1. bis 10. Tag, Festigkeitsprüfung 240 Stunden nach der ersten Applikation.

Um den Einfluß von Corticosteroidhormonen und Schilddrüsenhormonen zu untersuchen, injizierten wir Prednisolonacetat-Kristallsuspension (Hostacortin H) und L-Trijodthyronin (beides Farbwerke Höchst AG).

Außerdem wurde Rinder-Wachstums-Hormon (Somar-A, Armour Pharmaceutical Company) verwendet. Die drei Substanzen wurden in physiologischer Kochsalzlösung s.c. injiziert.

B) Tiermaterial

Als Versuchstiere dienten männliche Ratten aus der Zucht Buchmeier, sowie bei einzelnen Versuchen (isolierte Rattenschwanzsehne, s.u.) männliche Sprague Dawley Ratten. Die Tiere wurden nach 24, 48, 120 und 240 Stunden in Chloroformnarkose getötet. Um am Versuchsende jeweils etwa gleichalte Tiere zu haben, lag das Ausgangsgewicht der Tiere entsprechend der Versuchsdauer zwischen 80 und 120 g. Die Tiere erhielten das Mischfutter Altromin R der Firma Altrogge Lage und Leitungswasser ad libitum. Sie wurden in Metallkästen zu jeweils 10 Stück gehalten.

C) Voroperationen

Bei der Prüfung der Femurreißfestigkeit wurde auch eine Reihe von Versuchen vorgenommen, die die Wirkung von lathyrogenen Nitrilen bei adrenalektomierten und thyreo-parathyreoidektomierten Tieren zeigen sollten.

1) Adrenalektomie

Vor der Adrenalektomie wurden die Tiere zunächst mit Äthernarkotisiert. Während der Operation wurde die Narkose mit einem Äthergetränkten Wattebausch aufrechterhalten. Wir rasierten die Haare am mittleren Rückenteil der Ratte ab, reinigten die Fläche mit einer desinfizierenden Lösung und legten mit der Schere einen etwa 2 cm langen Hautschnitt entlang der Wirbelsäule. Dieses Hautfenster schoben wir über die Stelle, wo eine der beiden Nieren liegt und durchtrennten dort durch einen 1 cm langen Schnitt die Muskelschicht, worauf wir die Niere von ventral durch den Druck

einer Fingerkuppe durch diesen Spalt über die Rückenmuskulatur herausschieben konnten. Die Nebenniere wurde mit dem sie umgebenden Fettgewebe mit einer Pinzette von der Niere abgezogen, worauf wir diese wieder zurückgleiten ließen. Auf eine Blutstillung konnte verzichtet werden. Auf die gleiche Weise entfernten wir die zweite Nebenniere und schlossen dann die äußere Wunde mit Stahlklammern. Die adrenalektomierten Tiere erhielten statt Leitungswasser physiologische Kochsalzlösung ad libitum.

2) Thyreoparathyreoidektomie

Bei der Thyreoparathyreoidektomie wurden die narkotisierten Tiere mit dem Rücken nach unten auf einem Operationstischchen befestigt. Die Halsregion wurde rasiert und der Kopf mit einem Gummiband etwas nach dorsal gezogen, so daß wir das Fell am Hals durch einen medialen Schnitt durchtrennen konnten. Das Gewebe bis zur Luftröhre wurde in der Medianlinie stumpf durchtrennt. Die beiden gut stecknadelkopfgroßen rötlichen Schilddrüsenlappen konnten wir dann mit einer feinen Pinzette fassen und rissen sie mit einem leichten Zug ab. Auch bei dieser Operation konnte auf eine Blutstillung verzichtet werden. Die äußere Wunde wurde durch eine kleine Naht geschlossen.

D) Festigkeitsmessungen

Um die Reißfestigkeit des Bindegewebes zu prüfen, wurden drei Methoden angewandt.: Die Reißfestigkeitsprüfung

- 1) der distalen Epiphysenfuge des Femurs,
- 2) von der isolierten Rattenschwanzsehne,
- 3) von Aortenringen.

Die Tiere wurden in Chloroformnarkose getötet.

1) Reißfestigkeit der Femurepiphysenfuge

Um die Reißfestigkeit der Femurepiphysenfuge zu messen, wurde zunächst das Fell von einem der Hinterbeine abpräpariert. Wie frühere Untersuchungen ergeben haben, besteht kein Unterschied der Reißfestigkeit zwischen dem rechten und dem linken Bein. Wir schnitten das Fell vom Schwanzansatz aus einige Zentimeter entlang der Wirbelsäule auf und legten senkrecht dazu einen Schnitt durch die Haut des Hinterbeines. Danach zogen wir das Fell mit der Hand ab. Mit einer Schere durchtrennten wir die Muskulatur oberhalb des Trochanters und legten damit die Kapsel des Hüftgelenkes frei. Die Gelenkkapsel wurde aufgeschnitten und der Femurkopf sorgfältig exartikuliert. Schließlich wurde das Bein mit einem Scherenschlag durch Muskulatur und Bindegewebe amputiert. Der Femurkopf wurde in eine Schlinge aus dickem Perlonfaden eingehängt (Abb 1), der an dem Hebel eines einfachen Dynamometers (Drehfederwaage) befestigt war. Ein entsprechend konstruierter Haken faßte den Fuß oberhalb des Sprunggelenkes. An diesem Haken wurde ein Perlonfaden befestigt und dieser um eine gleichmäßig sich drehende Achse so aufgewickelt, daß die Belastung pro Sekunde etwa um 30 g zunahm. Als Achse verwendeten wir ein horizontal liegendes Uhrwerkmyographion. Bei einer bestimmten Belastung zerriß der Femur, und zwar stets entlang der distalen Epiphysenlinie. Der Zeiger am Dynamometer nahm einen Schleppzeiger mit, der die Belastung im Augenblick des Risses angab.

2) Festigkeitsmessung von isolierten Rattenschwanzsehn

Um die Belastungsgrenze der isolierten Rattenschwanzsehne zu messen, wurde die Haut des Schwanzes zunächst von der äußersten Spitze bis zum Körperansatz aufgeschlitzt und konnte dann leicht abgezogen werden. Wir lösten den Schwanz mit einem Scherenschlag vom Körper und schnitten die 10 letzten Wirbel am Schwanzende ab. Aus dem so präparierten

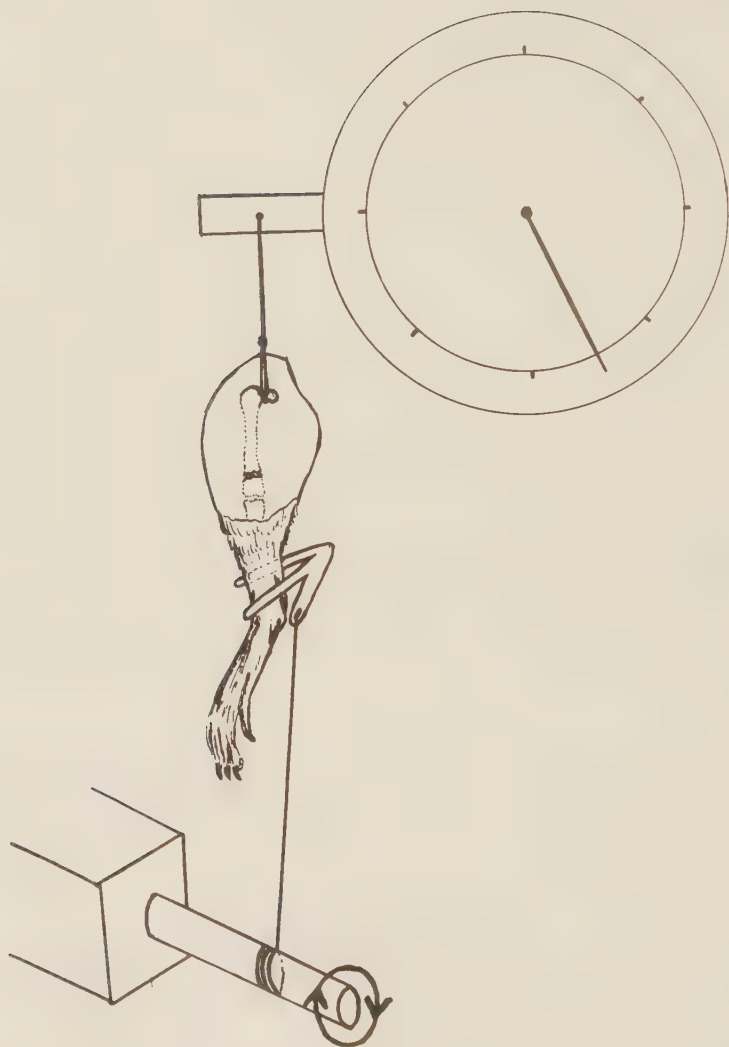


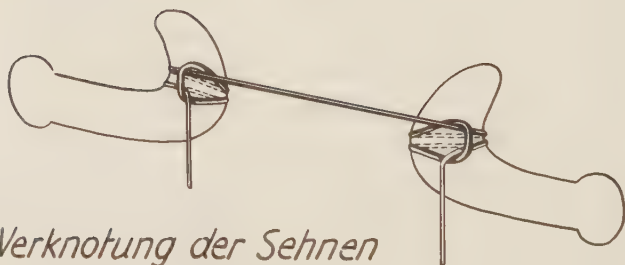
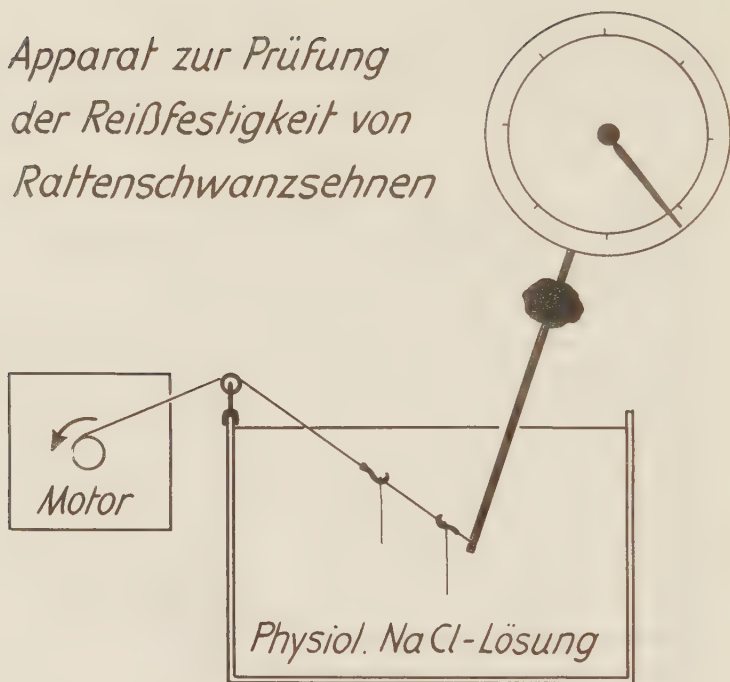
Abbildung 1. Versuchsanordnung zur Prüfung der Reißfestigkeit der Epiphysenfuge des Rattenfemur

Schwanz, der 2 dorsale und 2 ventrale Sehnenbündel aufweist, zogen wir mit einer spitzen Pinzette die einzelnen Sehnenfäden heraus. Wir nahmen jeweils nur eine gerade zum Versuch bestimmte Sehne und legten den präparierten Schwanz in der Zwischenzeit in eine feuchte Kammer, um einem Austrocknen der Sehnen vorzubeugen.

Bei der Auswahl der Sehnen wandten wir zwei Verfahren an. Im ersten Falle nahmen wir von jedem Tier 4 Sehnen, die einen möglichst kreisförmigen Querschnitt und einen Durchmesser von 0,25 mm hatten, und bei der zweiten Versuchsreihe unterzogen wir alle Sehnen aus einem der dorsalen Sehnenbündel, die über den elften Wirbelkörper zogen (vom Schwanzende aus gezählt) einer Reißfestigkeitsprüfung. Die Dicke der Sehnenfäden wurde unter einem Präparationsmikroskop bei Auflicht gemessen. Zu dieser Versuchsanordnung stellten wir eine mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllte Petrischale auf den Tisch des Mikroskopes. Die Dicke der Sehne, die in die Petrischale gebracht wurde, um auch während dieser Messung ein Austrocknen zu verhindern, wurde mit Hilfe eines Okularmikrometers bestimmt. Auf diese Weise konnten Sehnenfäden von konstantem Durchmesser, nämlich 0,25 mm, ausgewählt werden.

Wir spannten die isolierte Rattenschwanzsehne mit einem Macrameknoten so zwischen zwei Perlonhäkchen, daß die Reißfestigkeit der mittleren 20 mm der Sehne geprüft werden konnte. Hierzu faßten wir das Ende der haarnadelförmig ausgelegten Sehne mit einer Pinzette und legten die Schleife über die parallel laufenden Sehnenfäden. Durch Aufnehmen dieser beiden Sehnenfäden wurde eine Schlinge gebildet, die über die Häkchen gezogen werden konnte. Das eine Häkchen war durch einen Perlonfaden an einer sich gleichmäßig drehenden Achse befestigt, wodurch die Belastung kontinuierlich gesteigert wurde. Das andere hing an dem Hebel einer Drehfederwaage, an der die aufgewendete Kraft abgelesen werden konnte. Der Hebel der Drehfederwaage ragte in ein Gefäß mit physiologischer Kochsalzlösung, so daß die Sehne während der Reißprüfung keinen Wasserverlust erlitt (Abb. 2).

*Apparat zur Prüfung
der Reißfestigkeit von
Rattenschwanzsehnen*



*Verknotung der Sehnen
zwischen 2 Häkchen*

Abbildung 2

3) Festigkeitsmessung von Aortenringen

Zur Prüfung der Festigkeit von Aortenringen präparierten wir den Aortenbogen der getöteten Ratte möglichst schonend aus dem mit einigen Scherenschlägen geöffneten Thorax und schnitten aus dem aufsteigenden Teil des Aortenbogens mit einem Messer, dessen Schneide aus zwei parallel angeordneten Rasierklingen bestand, einen Ring von 2 mm Breite heraus. Der Aortenring wurde zwischen zwei Perlonhaken gehängt und entsprechend der Anordnung, wie sie oben bei den Versuchen mit der isolierten Rattenschwanzsehne beschrieben ist, zerrissen.

E) Statistische Auswertung

Bei der statistischen Auswertung gingen wir so vor, daß wir die Streuung nach der Formel

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot (Sx_i^2 - \frac{(Sx_i)^2}{n})}$$

berechneten und zwischen den zu vergleichenden Versuchsgruppen den t-Test anstellten:

$$t = \bar{x}_1 - \bar{x}_2 \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2 \cdot (n_1 + n_2 - 2)}{(n_1 + n_2) \cdot (QS_1 + QS_2)}}$$

wobei die Quadratsumme aus

$$QS = Sx_i^2 - \frac{(Sx_i)^2}{n}$$

errechnet wurde.

III. ERGEBNISSE

A) Reißversuche an der Femurepiphysenfuge

Bereits die ersten Versuche ergaben, daß - wie zu erwarten - die Reißfestigkeit der distalen Femurepiphysenfuge unter der Behandlung mit lathyrogenen Substanzen abfällt. In größeren Versuchsreihen vermochten wir nun zu klären, welches für jede der verwendeten Substanzen bei einmaliger und bei mehrmaliger Fütterung die niedrigste Dosis ist, die eine statistisch gesicherte Festigkeitsverminderung bewirkt. Es ergaben sich hierbei eindeutige Abhängigkeiten von Dosis und Fütterungsdauer, die in folgenden Dosiswirkungskurven und Zeitwirkungskurven für die einzelnen lathyrogenen Substanzen dargestellt werden.

1) Dosenwirkungsbeziehungen

a) AAN

Abbildung 3 veranschaulicht die Dosenwirkungskurven von AAN nach 1-, 2-, 5- und 10maliger Behandlung. Tabelle 1 gibt die statistische Berechnung wieder. Hier wurden die Kontrollen der gesamten Versuchsreihe für die jeweilige Versuchsdauer aufgegliedert und der statistische Vergleich gegen diese Gruppen geführt.

Bereits 24 Stunden nach einmaliger Behandlung zeigt sich ein signifikanter Abfall der Reißfestigkeit der Femurepiphysenfuge gegenüber Kontrolltieren bei der Dosierung von 31 mg/kg ($P < 0,05$). Tragen wir in einer Kurve die Dosen auf eine logarithmische Abszisse, dann finden wir für die Belastungsgrenze nach 24 Stunden bei 100 mg/kg und 310 mg/kg eine weitere annähernd geradlinige Senkung. Bereits unter der 100 mg/kg-Dosierung ist der Unterschied zu den Kontrollen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 0,001$ gesichert. Dann wird die Kurve ein wenig flacher und erreicht bei 1000 mg/kg ihren tiefsten Punkt. Bei einer weiteren Steigerung der Dosis auf 3100 mg/kg ist jedoch kein weiterer Abfall

Reißfestigkeit der Femurepiphysefuge an Ratten *Dosis-Wirkungskurven von AAN*

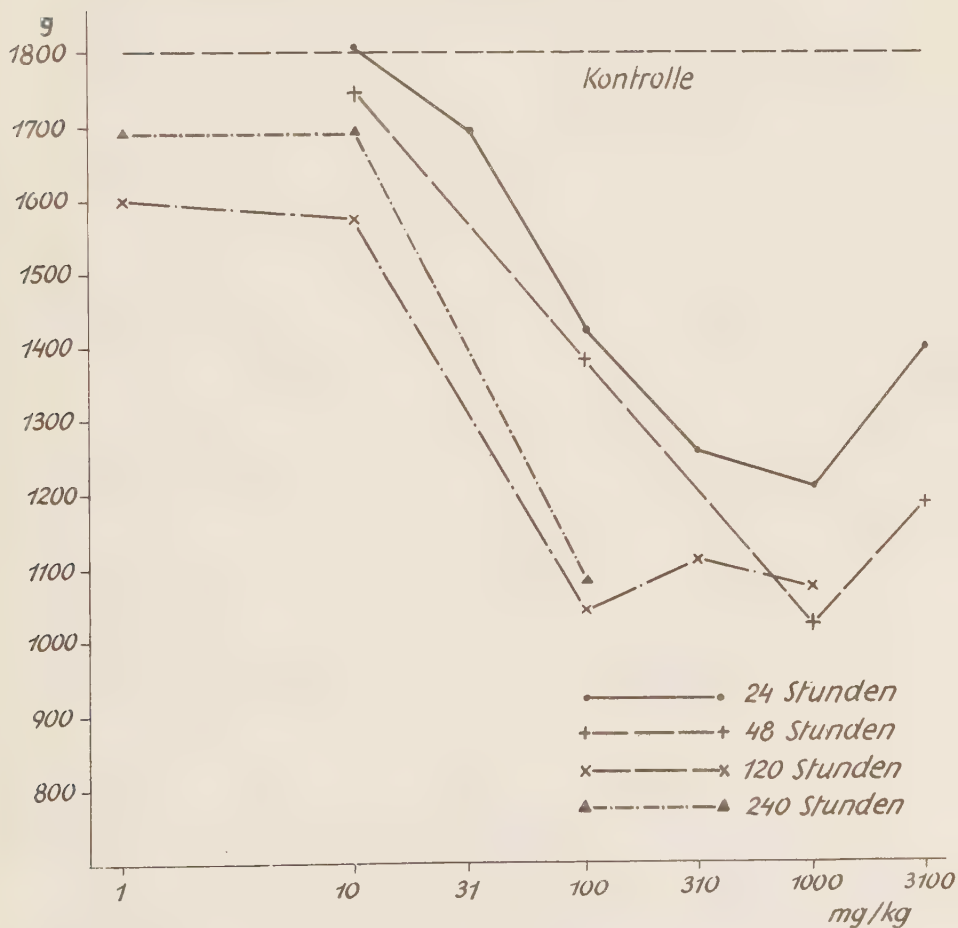


Abbildung 3

Reißfestigkeit der distalen Femurepiphysenfuge
der Ratte unter AAN nach 24, 48, 120 und 240 Stunden.
n = Anzahl der Tiere, $\bar{x}$ = Mittelwert in g, s = Standardabweichung.

	Kontrolle	AAN 1 mg/kg p.o.	AAN 10 mg/kg p.o.	AAN 31 mg/kg p.o.	AAN 100 mg/kg p.o.	AAN 310 mg/kg p.o.	AAN 1000 mg/kg p.o.	AAN 3100 mg/kg p.o.
Nach 24 Stunden								
n	114		40	30	50	29	50	35
$\bar{x}$	1805		1810	1696	1427	1259	1213	1401
s	236		190	185	189	203	198	232
P zu Kontrolle			> 0,05	< 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
P zu 100 mg/kg								< 0,001
Nach 48 Stunden								
n	20		20		19		10	8
$\bar{x}$	1772		1748		1367		1025	1188
s	157		157		100		130	196
P zu Kontrolle			> 0,05		< 0,001		< 0,001	< 0,001
P zu 1000 mg/kg								< 0,05
Nach 120 Stunden								
n	39	10	30		19	20	8	
$\bar{x}$	1784	1600	1578		1047	1110	1075	
s	215	181	157		246	208	271	
P zu Kontrolle		< 0,05	< 0,001		< 0,001	< 0,001	< 0,001	
Nach 240 Stunden								
n	39	8	38		18			
$\bar{x}$	1831	1694	1697		1083			
s	219	127	334		266			
P zu Kontrolle		> 0,05	< 0,05		< 0,001			

Tabelle 1

zu verzeichnen, sondern die Reißfestigkeit der Epiphysenfuge steigt wieder an. Der Unterschied gegenüber dem Reißwert der 1000 mg/kg Dosierung ist mit $P < 0,001$ gesichert.

Nach 48 Stunden Versuchsdauer, d.h. nach zweimaliger Fütterung ist zwar der Reißwert schon unter der 10 mg/kg Dosierung erniedrigt, doch ist der Unterschied nicht statistisch zu sichern. Die nächste geprüfte Dosis nämlich 2 mal 100 mg/kg AAN senkt die Femurbelastungsgrenze deutlich. Auch nach zweimaliger Applikation ist der tiefste Wert unter 1000 mg/kg AAN erreicht, dann steigt die Kurve auch hier nach Erhöhung der Dosis auf 3100 mg/kg wieder deutlich an.

Nach 120 Stunden Versuchsdauer (5maliger Gabe) ist schon mit der niedrigsten der geprüften Dosen, nämlich nach 1 mg/kg täglich, ein Abfall der Belastungsgrenze des Rattenfemur zu beobachten. Nach 10 mg/kg wird die Reißfestigkeit weiter gesenkt. Das Minimum der Reißfestigkeit ist hier schon unter der Dosis 100 mg/kg erreicht. Die Dosiserhöhung auf täglich 310 und 1000 mg/kg bringt keine weitere Senkung, jedoch erfolgt auch kein Wiederanstieg der Kurve.

Nach 240 Stunden, während welcher Zeit wir 10 mal AAN verabfolgten, liegen unter 1 und 10 mg/kg die Reißwerte der Femurepiphysenfuge unter der Kontrolle, doch ist der Unterschied wegen der geringen Fallzahl statistisch nicht zu sichern. Nach 10 Verabfolgungen von 100 mg/kg erreicht die Senkung der Belastungsgrenze etwa den gleichen Wert wie nach der 120-stündigen Versuchsdauer.

b) MAAN

Die Dosenwirkungsverhältnisse nach Verabfolgung von MAAN zeigt Abbildung 4. Tabelle 2 gibt die Anzahl der Versuche und die statistische Berechnung wieder. Nach einmaliger Applikation finden wir auch hier unter 31 mg/kg einen signifikanten Senkungseffekt. Unter 100 mg/kg senkt sich die Kurve weiter, um dann nach 310 und 1000 mg/kg in etwa gleicher Höhe zu verlaufen.

Reißfestigkeit der Femurepiphysefuge an Ratten *Dosis-Wirkungskurven von MAAN*

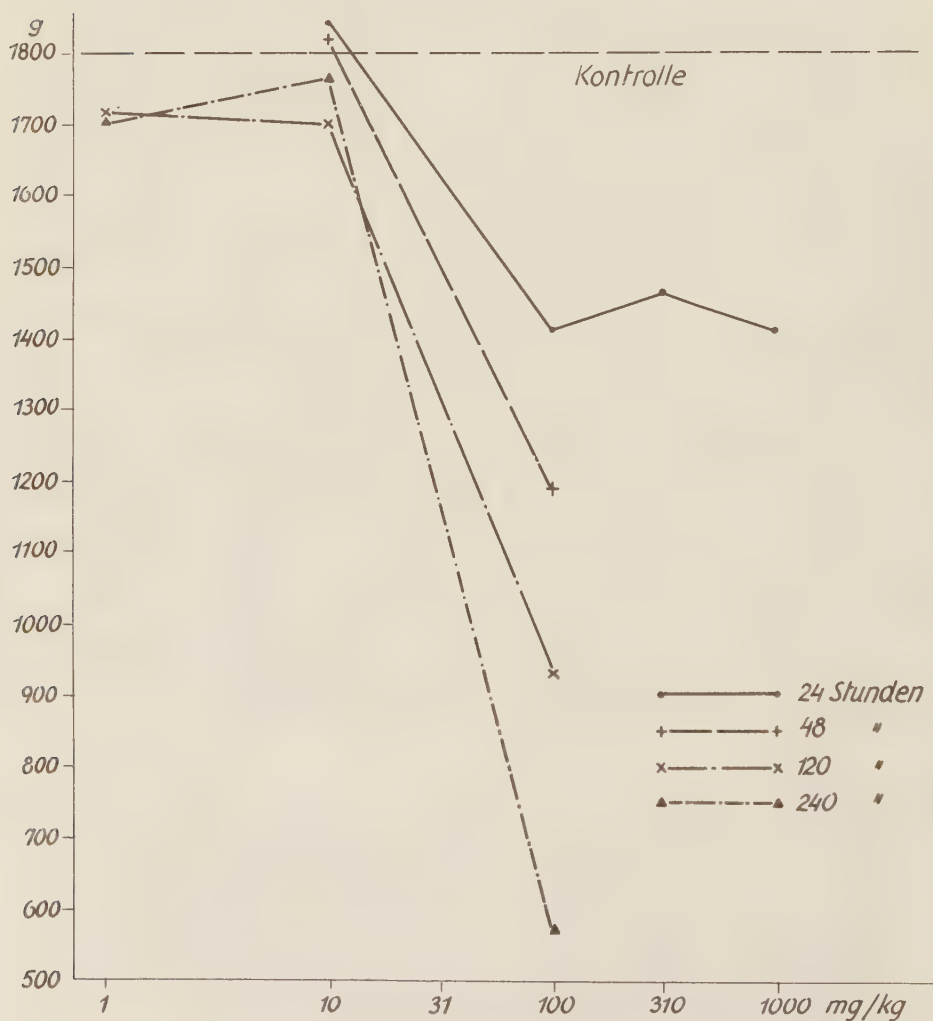


Abbildung 4

Tabelle 2

Reißfestigkeit der distalen Femurepiphyse der Ratte
unter MAAN nach 24, 48, 120 und 240 Stunden. n = Anzahl
der Tiere, $\bar{x}$ = Mittelwert in g, s = Standardabweichung.

	Kontrolle	MAAN 1 mg/kg p.o.	MAAN 10 mg/kg p.o.	MAAN 31 mg/kg p.o.	MAAN 100 mg/kg p.o.	MAAN 310 mg/kg p.o.	MAAN 1000 mg/kg p.o.
Nach 24 Stunden							
n	114		20	20	30	20	30
$\bar{x}$	1805		1842	1610	1413	1467	1410
s	236		346	234	256	231	203
P zu Kontrolle			>0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Nach 48 Stunden							
n	20		10		10		
$\bar{x}$	1772		1820		1190		
s	157		254		88		
P zu Kontrolle			>0,05		<0,001		
Nach 120 Stunden							
n	39	10	20		10		
$\bar{x}$	1784	1715	1700		930		
s	215	203	180		215		
P zu Kontrolle		>0,05	>0,05		<0,001		
Nach 240 Stunden							
n	39	10	19		17		
$\bar{x}$	1831	1710	1768		577		
s	219	245	213		155		
P zu Kontrolle		>0,05	>0,05		<0,001		

Beim 48-Stunden-Wert, wo wir nur die Dosen 10 und 100 mg/kg prüften, zeigt sich bei 100 mg/kg eine Senkung der Reißfestigkeit.

Nach 120 Stunden (fünfmaliger Verabfolgung) ist eine Senkung der Belastungsgrenze der Epiphysenfuge unter 1 und 10 mg/kg vorhanden, die sich jedoch nicht statistisch sichern läßt. Nach Verabfolgung von 100 mg/kg ist der Festigkeitswert auf rund die Hälfte des Wertes der Kontrollen erniedrigt.

Nach zehnmaliger Verabfolgung, beim 240-Stunden-Wert, finden wir ebenfalls nach 1 und 10 mg/kg MAAN einen niedrigeren Reißwert als bei der Kontrolle, die Unterschiede sind jedoch wegen der geringen Fallzahl statistisch nicht zu sichern. Die zehnmalige Gabe von 100 mg/kg MAAN erniedrigt die Belastungsgrenze sehr stark bis auf 577 g, d.h. bis auf etwa ein Drittel des Kontrollwerts.

C) IDPN

Bei der Versuchsreihe mit IDPN finden wir die Dosenwirkungskurven auf Abbildung 5 und die statistischen Berechnungen auf Tabelle 3.

Beim 24-Stunden-Wert zeigt die Kurve eine nahezu lineare Proportion zum Logarithmus der Dosis. Bei den Dosen 10 und 31 mg/kg ist die Senkung gegenüber dem Reißwert der Kontrollgruppe noch nicht statistisch zu sichern. Die erste signifikante Erniedrigung der Belastungsgrenze ist unter 100 mg/kg IDPN zu verzeichnen. 310 mg/kg führt zu einer weiteren Senkung des Reißwertes, der unter 1000 mg/kg, der höchsten geprüften Dosis, mit 1385 g am tiefsten liegt.

Nach zweimaliger Verabfolgung, nach 48 Stunden, finden wir nach 100 mg/kg eine deutliche Senkung der Belastungsgrenze der Femurepiphysenfuge, während der Effekt von 10 mg/kg IDPN statistisch nicht gesichert ist.

Reißfestigkeit der Femurepiphyse an Ratten Dosis-Wirkungs-Kurven von IDPN

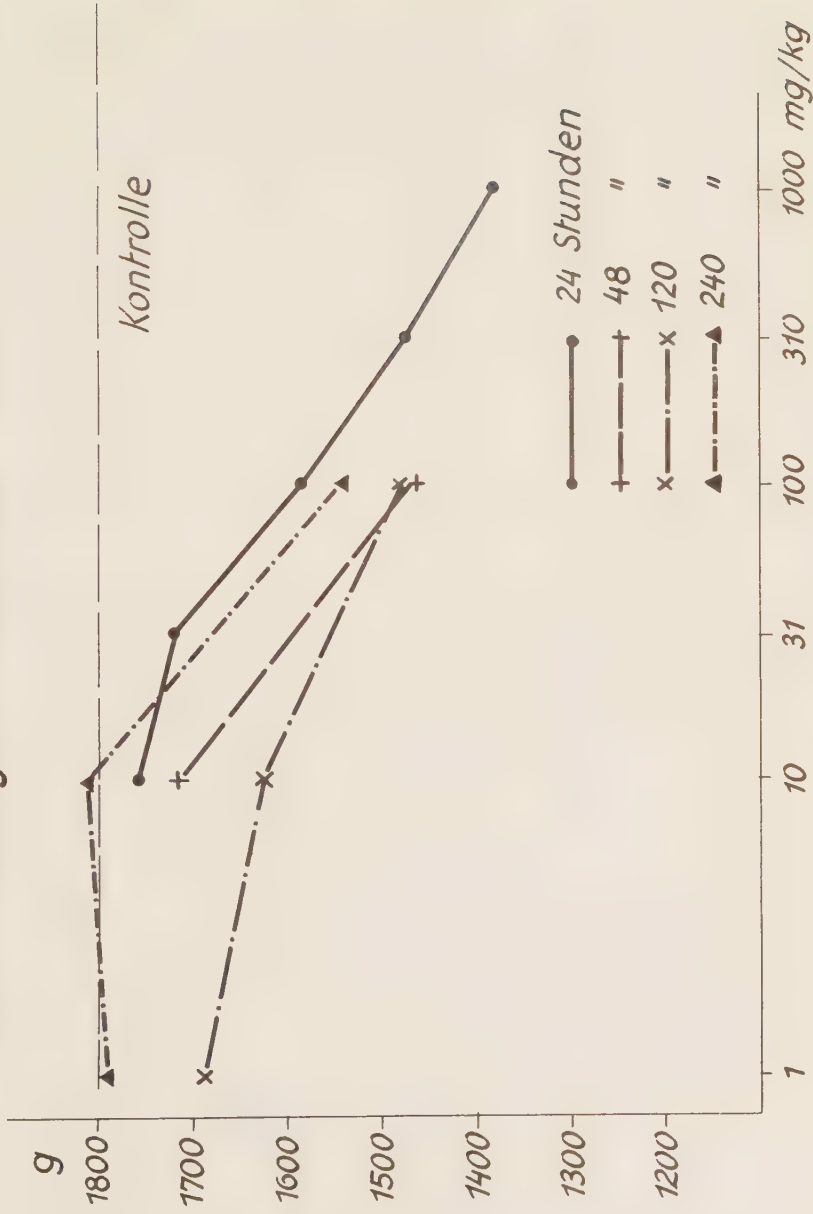


Abbildung 5

Reißfestigkeit der distalen Femurrepiphysenfuge der Ratte
unter IDPN nach 24, 48, 120 und 240 Stunden. n = Anzahl
der Tiere, $\bar{x}$ = Mittelwert in g, s = Standardabweichung.

	Kontrolle	IDPN 1 mg/kg p.o.	IDPN 10 mg/kg p.o.	IDPN 31 mg/kg p.o.	IDPN 100 mg/kg p.o.	IDPN 310 mg/kg p.o.	IDPN 1000 mg/kg p.o.
Nach 24 Stunden							
n	114		20	20	29	21	30
$\bar{x}$	1305		1758	1720	1580	1478	1385
s	236		179	353	300	278	221
p zu Kontrolle			>0,05	>0,05	<0,001	<0,001	<0,001
Nach 48 Stunden							
n	20		10		10		
$\bar{x}$	1772		1715		1470		
s	157		208		157		
p zu Kontrolle			>0,05		<0,001		
Nach 120 Stunden							
n	39	10	19		10		
$\bar{x}$	1784	1690	1626		1480		
s	215	187	218		257		
p zu Kontrolle		>0,05	<0,05		<0,001		
Nach 240 Stunden							
n	39	9	27		20		
$\bar{x}$	1831	1789	1814		1547		
s	219	288	182		233		
p zu Kontrolle		>0,05	>0,05		<0,001		

Tabelle 3

Nach 120 Stunden Versuchsdauer senkt 1 mg/kg täglich die Reißfestigkeit auf 1690 g. Doch ist dieser Wert bei der niedrigen Anzahl der Versuche gegenüber der Kontrolle (1784 g) nicht statistisch zu sichern. Nach 10 mg/kg tritt eine deutliche Erniedrigung der Reißfestigkeit auf, die unter 100 mg/kg noch weiter gesenkt wird.

Nach 240 Stunden, während welcher Zeit wir 10 mal IDPN verabfolgten, zeigt sich bei den niedrigen Dosen von 1 und 10 mg/kg keine Wirkung auf die Reißfestigkeit der Femurepiphyse. Bei Erhöhung auf 100 mg/kg ist jedoch die Belastungsgrenze deutlich erniedrigt.

2) Zeitwirkungsbeziehungen

a) AAN

Wie bereits aus den vorhergehenden Darstellungen der Dosiswirkungskurven hervorgeht, besteht eine eindeutige Abhängigkeit der Reißfestigkeitsabnahme von der Dauer der Applikation. Abbildung 6 zeigt die Zeitwirkungskurven für täglich 10 und 100 mg/kg AAN. Für die jeweilige Verabfolgungsdauer wurden die Kontrollen der gesamten Versuchsreihe zusammengefasst. Entsprechend dem zunehmenden Alter der Tiere während der Verabfolgungsdauer finden wir bei der Kontrollkurve eine leichte Erhöhung der Reißfestigkeit der Femurepiphyse.

Unter 10 mg/kg ist nach 24 und 48 Stunden noch keine Wirkung zu verzeichnen. Nach 120 Stunden (fünfmalige Verabfolgung) ist die Belastungsgrenze gegenüber der Kontrolle gesenkt. Der ebenfalls signifikant erniedrigte 240-Stunden-Wert steigt gegenüber dem Wert nach fünfmaliger Fütterung geringfügig an.

Unter 100 mg/kg AAN ist die Reißfestigkeit nach 24 Stunden deutlich bis auf 1427 g gesenkt. Zweimalige und fünfmalige Verabfolgung (48 und 120 Stunden) zeigen jeweils eine weitere Erniedrigung der Belastungsgrenze. Nach 120 Stunden ist der niedrigste Punkt der Kurve erreicht. Die zehnmalige Verabfolgung bringt keine weitere Senkung des Reißwertes.

b) MAAN

Die Zeitwirkungsverhältnisse nach MAAN zeigt Abbildung 7. Die Gesamtkontrollwerte entsprechen hier der Kurve der Abbildung 6. Täglich 10 mg/kg MAAN zeigen nach 120 und 240 Stunden eine Senkung der Belastungsgrenze. Jedoch ist diese Erniedrigung gegenüber der Kontrolle nicht statistisch gesichert.

Die Kurve unter 100 mg/kg zeigt eine besonders deutliche Abhängigkeit der Reißfestigkeitsabnahme von der Dauer der Applikation. Nach 24 Stunden wird die Belastungsgrenze auf 1413 g gesenkt. Vom 48-Stunden-Wert, der einen weiteren Abfall der Reißfestigkeit bis auf 1190 g zeigt, verläuft die Kurve nahezu geradlinig bis zum tiefsten Punkt nach 240 Stunden (zehnmalige Verabfolgung), an dem die durchschnittliche Belastungsgrenze der Femurepiphysefuge nur noch 577 g beträgt.

c) IDPN

Bei der Darstellung der Zeitwirkungskurven von IDPN (Abbildung 8) finden wir unter 10 mg/kg nach 120 Stunden eine signifikante Senkung der Reißfestigkeit. Nach 24, 48 und 240 Stunden liegt die Belastungsgrenze nur geringfügig unter der jeweiligen Kontrolle, ohne daß der Unterschied statistisch zu sichern ist.

100 mg/kg IDPN senken die Belastungsgrenze der Femurepiphysefuge bereits nach 24 Stunden deutlich. Nach zweimaliger Fütterung (48-Stunden-wert) fällt die Belastungsgrenze weiter bis auf 1470 g. Nach 120 und 240 Stunden (fünf- bzw. zehnmalige Verabfolgung) erfolgt unter dieser Dosis keine weitere Erniedrigung der Belastungsgrenze

Reißfestigkeit der Femurepiphysefuge an Ratten *Zeitwirkungskurven von AAN*

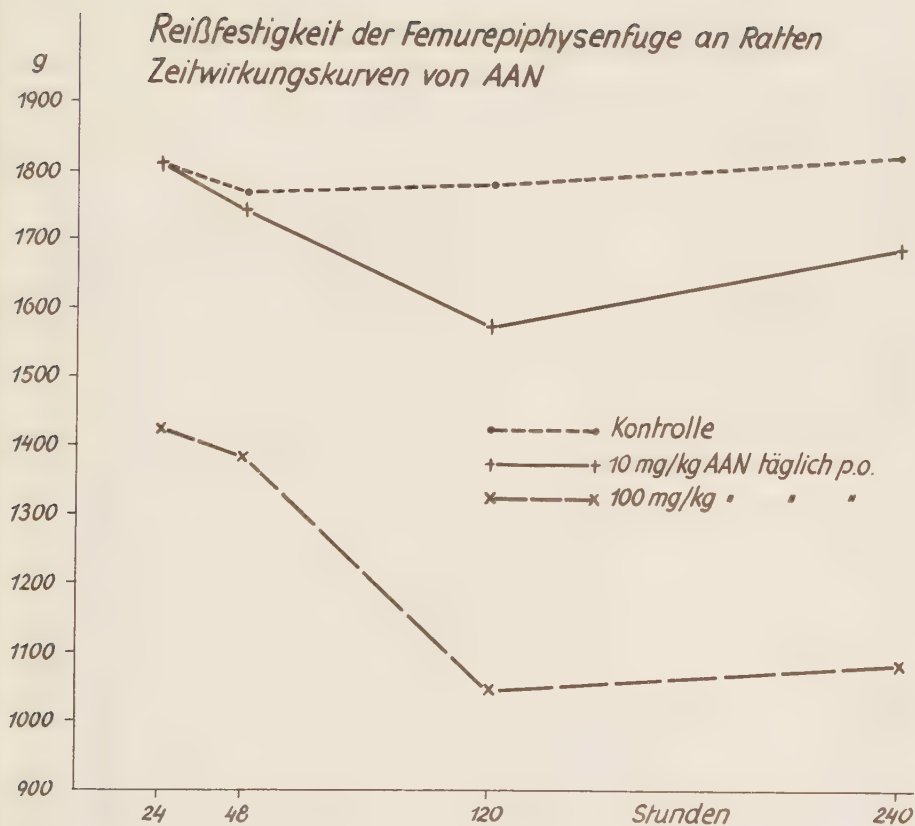


Abbildung 6

Reißfestigkeit der Femurepiphyse an Ratten Zeitwirkungskurven von MAAN

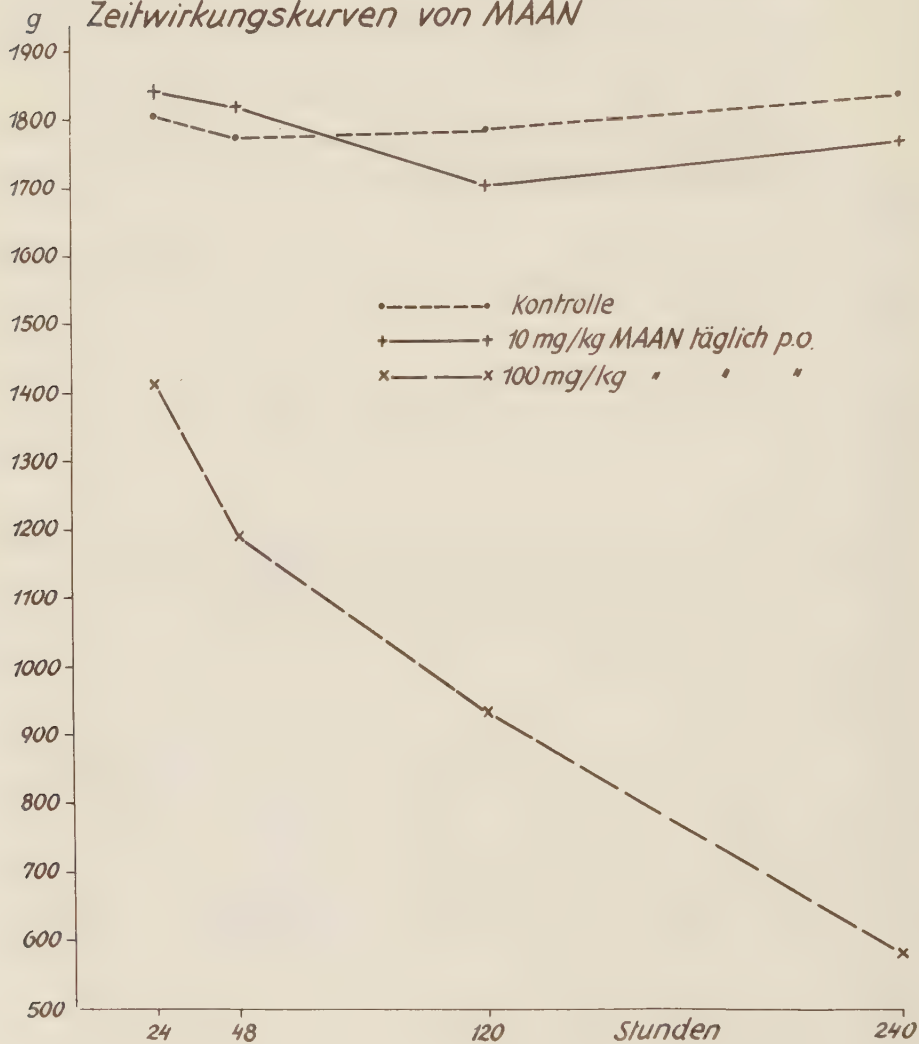


Abbildung 7

Reißfestigkeit der Femurepiphyse an Ratten Zeitwirkungskurven von IDPN

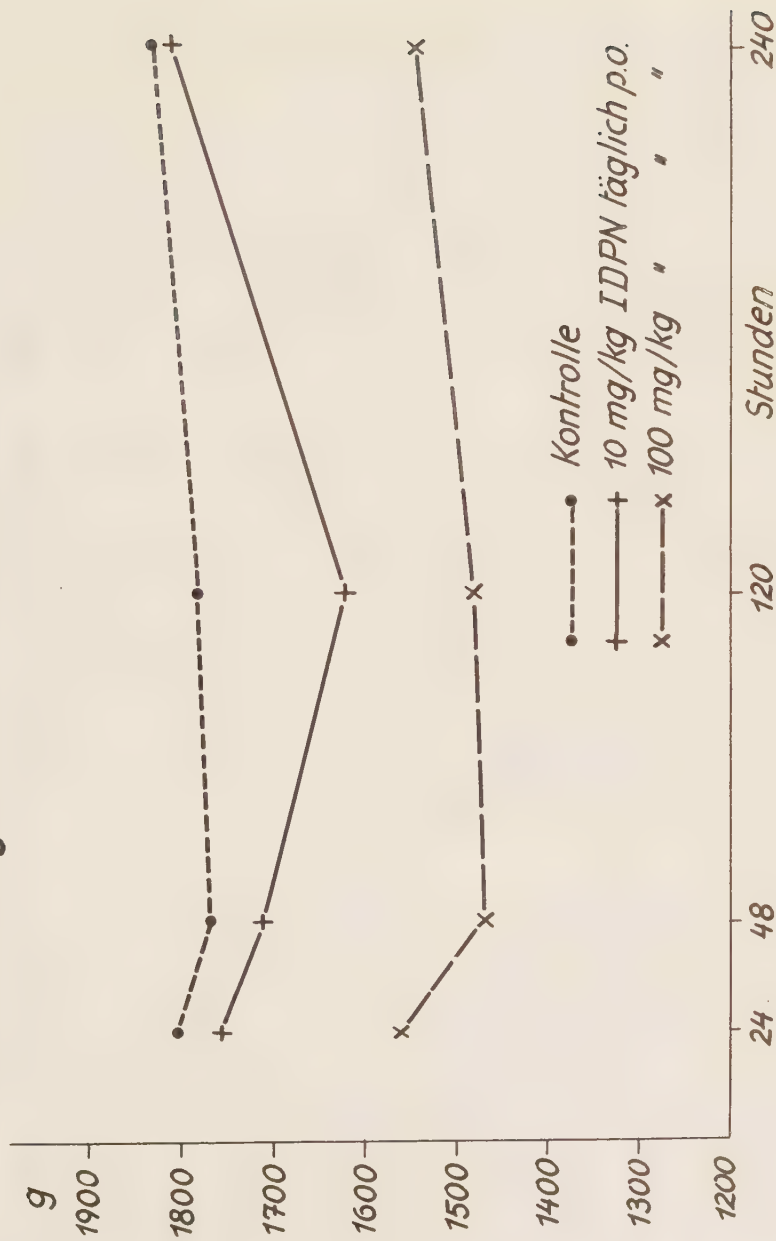


Abbildung 8

3) Gegenüberstellung gleicher Dosen der drei geprüften Nitrile

a) Nach 24 Stunden

Abbildung 9 und Tabelle 4 zeigt einen Vergleich der Wirksamkeit der drei geprüften lathyrogenen Nitrile nach 24 Stunden. Unter 10 mg/kg zeigt sich in keinem Falle eine signifikante Wirkung. Nach 31 mg/kg ist die Erniedrigung des Reißwertes unter MAAN am deutlichsten. AAN zeigt eine etwas geringere, jedoch signifikante Wirkung. Die Veränderung des Reißwertes durch IDPN läßt sich bei dieser Dosis noch nicht statistisch sichern.

Bei einer Konzentration von 100 mg/kg senken AAN und MAAN die Reißfestigkeit etwa gleich stark, während IDPN eine geringere Wirkung ausübt. Bei Erhöhung der Dosis auf 310 mg/kg senken AAN und IDPN die Reißfestigkeit weiter, während MAAN nach 24 Stunden Behandlungsdauer mit Erhöhung der Dosis keine weitere Senkung mehr bewirkte. Daraus folgt für MAAN und IDPN bei 310 mg/kg ein etwa gleich großer Reißwert. Die Belastungsgrenze für AAN liegt deutlich darunter. Bei der höchsten bei allen 3 Substanzen geprüften Dosis (1000 mg/kg) liegen die Werte für MAAN und IDPN wieder nahezu auf gleicher Höhe, während AAN auch hier eine stärkere Wirkung zeigt.

b) nach 120 Stunden

Die Gegenüberstellung der Wirkung gleicher Dosen von AAN, MAAN und IDPN nach 120 Stunden (fünfmaliger Verabfolgung) zeigt Abbildung 10. Tabelle 5 gibt die statistischen Berechnungen wieder. Unter 1 mg/kg ist die Reißfestigkeit unter allen drei Substanzen erniedrigt. Der Unterschied gegenüber der Kontrolle ist jedoch nur für AAN statistisch gesichert. Nach 10 mg/kg täglich zeigt AAN ebenfalls die deutlichste Wirkung, während die Erniedrigung des Reißwertes unter MAAN und IDPN nicht statistisch gesichert werden kann. Unter 100 mg/kg zeigen MAAN und das etwas höher liegende AAN einen wesentlich stärkeren Senkungseffekt als IDPN.

Reißfestigkeit der Femurepiphyse an Ratten Vergleich der Dosis-Wirkungskurven von AAN, MAAN und IDPN 24 Stunden nach einmaliger Gabe

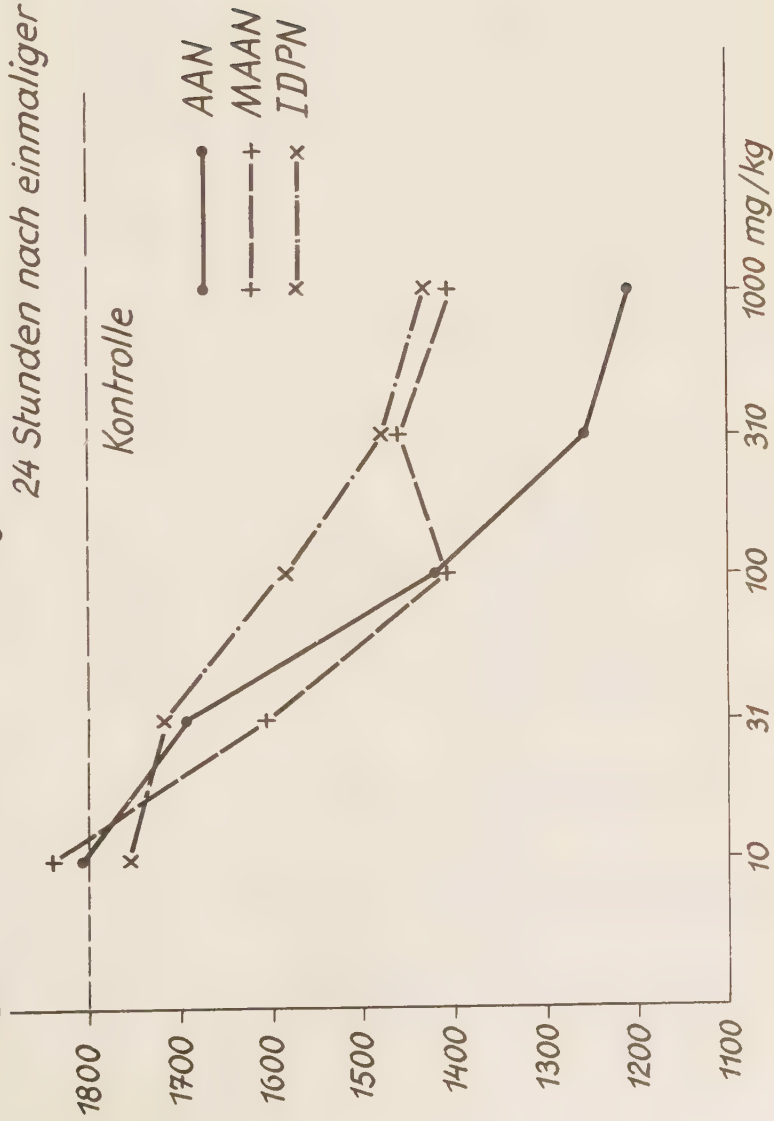


Tabelle 4

Reifeffektivität der Temurepihysefuge an Ratten
Dosis - Wirkungs - Vergleich nach 24 Stunden

	Dosis (mg/kg)	10	31	100	310	1000
AAN	n	40	30	50	29	50
	$\bar{x}$ s	1810 190	1696 185	1427 189	1259 203	1213 198
MAAN	n	20	20	30	20	30
	$\bar{x}$ s	1842 346	1610 234	1413 256	1467 231	1410 203
IDPN	n	20	20	29	21	30
	$\bar{x}$ s	1758 179	1720 353	1588 300	1478 278	1385 221

*Reißfestigkeit der Femurepiphysenfuge
an Ratten. Vergleich der Dosis-Wirkungskurven
von AAN, MAAN und IDPN nach 5maliger Gabe*

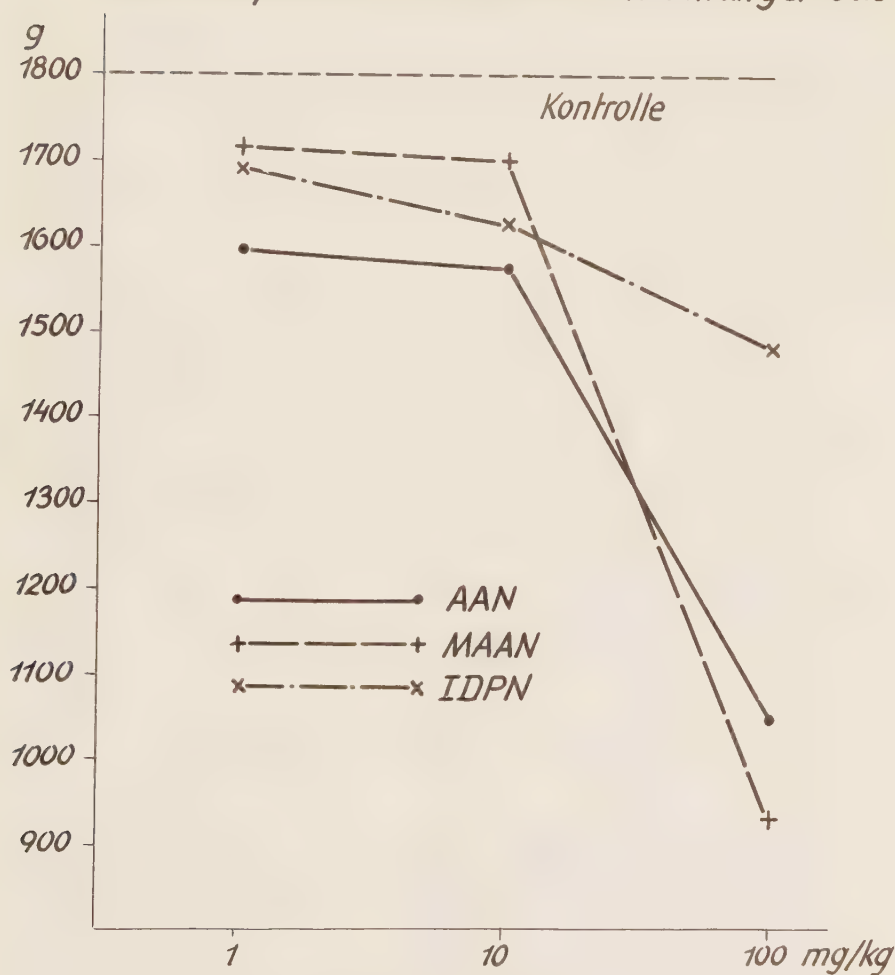


Abbildung 10

Tabelle 5

Reissfestigkeit der Femurepiphysenfuge an Ratten
Dosis - Wirkungsvergleich nach 120 Stunden

	Dosis (mg/kg)	1	10	100
AAN	n	10	30	19
	$\bar{x}$ s	1600 181	1578 157	1047 246
id/AAN	n	10	20	10
	$\bar{x}$ s	1715 203	1700 180	930 215
IDPN	n	10	19	10
	$\bar{x}$ s	1690 187	1626 218	1480 257

4) Beeinflussung der Belastungsgrenze durch gleichzeitige Gaben von Hormonen und durch Entfernung innersekretorischer Drüsen

a) STH

SELYE (1956) fand, daß Wachstumshormon die Entwicklung des Osteolathyrismus bei Ratten, die eine 50prozentige Lathyrus-odoratus-Diät erhielten, beschleunigt und die Intensität der Skelettveränderungen verstärkt. Bei der hier vorliegenden Arbeit untersuchten wir, wie weit eine Beeinflussung durch STH auch mit physikalisch-mechanischen Methoden festzustellen ist.

Abbildung 11 veranschaulicht die Verhältnisse des Kombinationsversuches nach 24 und 120 Stunden. Tabelle 6 gibt die statistische Berechnung wieder. Die Werte für die Kontrolle und für AAN wurden aus der gesamten Versuchsreihe zusammengefaßt. 24 Stunden nach der gleichzeitigen Injektion von 1 mg/kg Rinderwachstumshormon s.c. und Fütterung von 100 mg/kg AAN sind die Reizwerte gegenüber der alleinigen Applikation von 100 mg/kg AAN deutlich erniedrigt. Auch nach 120 Stunden, d.h. fünfmaliger Verabfolgung von 10 mg/kg AAN p.o. und 0,1 mg/kg Wachstumshormon s.c. ist die Belastungsgrenze über das durch alleinige Gabe von 10 mg/kg AAN verursachte Maß hinaus weiter erniedrigt.

b) Einfluß von Corticosteroiden und von Adrenalektomie

α) Prednisolonacetat

SELYE (1956) fand, daß Cortisol eine deutliche Schutzwirkung gegenüber lathyrogenen Substanzen ausübt. Bei unseren funktionellen Untersuchungen verwendeten wir als Corticosteroid Prednisolonacetat, das eine etwa viermal stärkere Wirksamkeit besitzt. Da nach den Befunden von VOGEL und THER (1963 a u. b) unter kurzauernder Gabe von Corticosteroiden eine Verfestigung des Bindegewebes auftritt, war zu erwarten, daß Prednisolonacetat die Wirkung der unter-

Reißfestigkeit der Femurepiphysealfuge an Ratten nach Behandlung mit AAN sowie der Kombination mit Rinder-Wachstumshormon

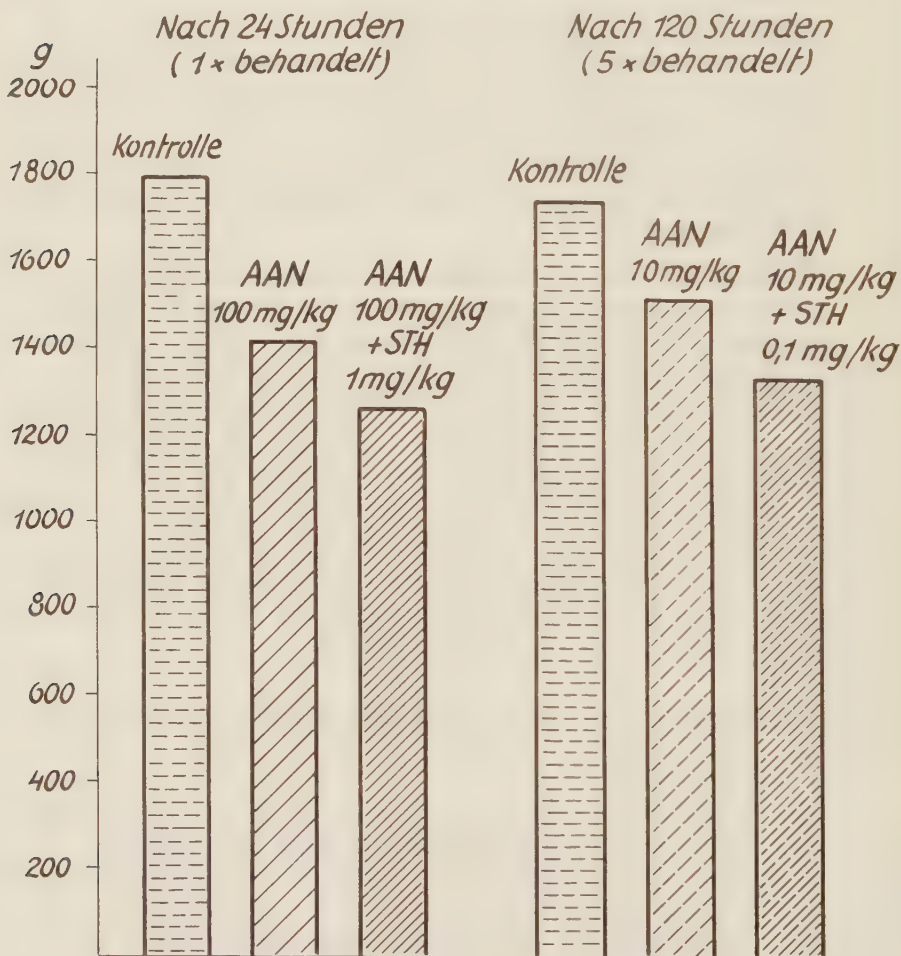


Abbildung 11

Tabelle 6

Belastungsgrenze der Femurepiphyse von jungen Ratten unter AAN, sowie der Kombination mit Rinderwachstumshormon. n = Anzahl der Tiere, $\bar{x}$ = Mittelwert in g, s = Standardabweichung.

	a) Kontrolle	b) AAN 100 mg/kg p.o.	c) AAN 100 mg/kg p.o. + Wachstumshormon 1 mg/kg s.c.
Nach 24 Stunden			
n	124	59	10
$\bar{x}$	1797	1416	1255
s	230	198	167
F zu b	<0,001		<0,05
	a) Kontrolle	b) AAN 10 mg/kg p.o.	c) AAN 10 mg/kg p.o. + Wachstumshormon 0,1 mg/kg s.c.
Nach 120 Stunden			
n	49	40	8
$\bar{x}$	1736	1513	1338
s	206	166	192
F zu b	<0,001		<0,05

suchten Nitrile antagonisiert oder aufhebt. Wir fanden in unseren Kombinationsversuchen ebenfalls einen deutlichen Antagonismus gegenüber den geprüften Nitrilen. Die Abbildungen 12 und 13 stellen die Reißwerte der Femurepiphysenfuge nach 24 bzw. 240 Stunden dar. Tabelle 7 und 8 geben die statistische Berechnung wieder.

Nach 24 Stunden

Nach 24 Stunden erhöhen 5 mg/kg Prednisolonacetat s.c. die Belastungsgrenze der Epiphysenfuge gegenüber der Kontrolle von durchschnittlich 1578 g deutlich bis auf 2235 g. Gibt man 5 mg/kg Prednisolonacetat s.c. zusammen mit 100 mg/kg AAN p.o., so wird der gegensinnige Effekt beider Agentien aufgehoben und die Belastungsgrenze im Kombinationsversuch entspricht etwa dem Kontrollwert. Der unter der Kombinationsbehandlung gefundene durchschnittliche Reißwert unterscheidet sich deutlich sowohl von dem der alleinigen AAN Behandlung als auch von dem nach alleiniger Prednisolonacetatinjektion. Bei gleichbleibender Dosierung von 5 mg/kg Prednisolonacetat s.c. und auf das Zehnfache erhöhte AAN-Gabe (1000 mg/kg), tritt die Wirkung der Nitrile zwar etwas starker in Erscheinung, doch verhindert die gleichzeitige Corticoidgabe eine signifikante Senkung unter den Wert der unbehandelten Kontrollen. Auch bei der höheren Nitrii-Dosierung ist wiederum der Wert der Kombinationsbehandlung signifikant von den Werten der Einzelbehandlung verschieden.

Unter 100 mg/kg MAAN p.o. + 5 mg/kg Prednisolonacetat s.c. ist eine geringe Senkung der Belastungsgrenze gegenüber der Kontrolle vorhanden. Das Ergebnis nach kombinierter Behandlung liegt wieder zwischen den Werten nach Einzelbehandlung und ist von diesen jeweils statistisch deutlich abzugrenzen. So wie sich bei der Aufstellung der Dosenwirkungskurve von MAAN zeigte, daß nach 24 Stunden unter einer Konzentration von 100 mg/kg schon der tiefste Wert der Be-

Reißfestigkeit der Femurepiphyse von Ratten 24 Std. nach Behandlung mit AAN, MAAN, IDPN und der Kombination mit Prednisolonacetat (PrA)

(Dosen in mg/kg)

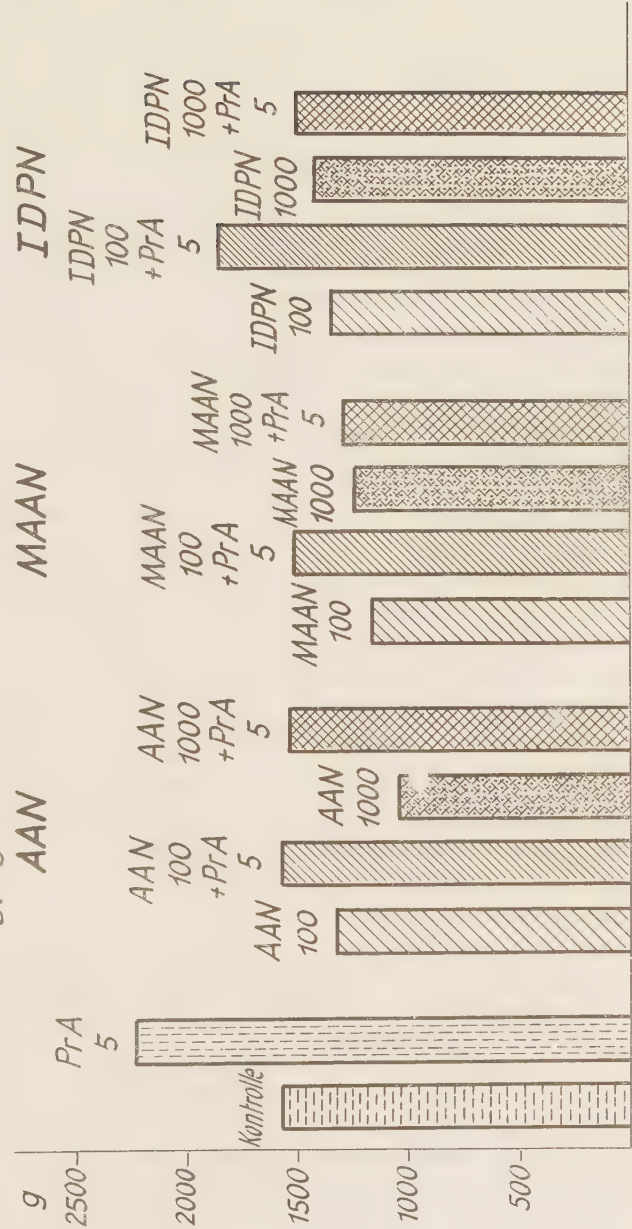


Abbildung 12

Tabelle 7

Beinflussung der Relativfestigkeit der Femurrepiphysenfuge an Ratten unter AAN, MAAN, IDPN und Prednisolonacetat (Kristallsuspension) sowie der Kombination beider Substanzen. Versuchsdauer 24 Stunden. n = Anzahl der Tiere, $\bar{x}$ = Mittelwert in G, s = Standardabweichung.

Abkürzung des ver- wendeten Nitrils	a) Kontrolle	b) Prednisolon- acetat 5 mg/kg s.c.	c) Nitril 100 mg/kg p.o.	d) Nitril 100 mg/kg p.o. + Prednisolon- acetat 5 mg/kg s.c.	e) Nitril 1 000 mg/kg p.o.	f) Nitril 1 000 mg/kg p.o. + Prednisolonacetat 5 mg/kg s.c.
AAN	40 1578 283	40 2235 266 <0,001	10 1335 220 <0,05	19 1576 171 >0,05 <0,001 <0,01	10 1050 125 <0,001	20 1535 128 >0,05 <0,001
MAAN	40 1578 283	40 2235 266 <0,001	10 1175 225 <0,001	19 1513 170 >0,05 <0,001 <0,001	9 1256 213 <0,01	20 1282 162 <0,001 <0,001
IDPN	40 1578 283	40 2235 266 <0,001	10 1350 123 <0,05	19 1857 353 <0,01 <0,001 <0,001	10 1420 190 >0,05	19 1502 191 >0,05 <0,001

lastungsgrenze erreicht ist, läßt sich auch hier keine weitere Senkung durch die 10fach höhere Dosis von 1000 mg/kg feststellen. Im Kombinationsversuch mit 5 mg/kg Prednisolonacetat zeigen 1000 mg/kg MAAN eine sehr starke Senkung des Reißwertes gegenüber der Prednisolonacetat-Kontrolle. Der Einfluß des Nitrils überwiegt den des Corticosteroids, d.h. die Meßwerte nach Kombinationsbehandlung liegen nur geringfügig höher als die der nur mit MAAN behandelten Tiere.

IDPN, das per se von den geprüften Nitrilen die geringste Festigkeitsverminderung bewirkt, zeigt auch im Antagonismusversuch eine geringere Wirksamkeit. Immerhin vermögen 100 mg/kg IDPN p.o. den Effekt von Prednisolonacetat noch eindeutig zu erniedrigen. Jedoch überwiegt in der Kombinationsbehandlung der Prednisolonacetateffekt; der Mittelwert der Kombinationsgruppe liegt höher als die Leerkontrollen. Obwohl 1000 mg/kg IDPN p.o. die Reißfestigkeit in diesem Versuch keineswegs starker erniedrigen als 100 mg/kg, ist die hohe Dosis im Prednisolonacetat-Kombinationsversuch wesentlich wirksamer; der betreffende Wert liegt noch unter den Leerkontrollen und ist nur wenig höher als das Ergebnis nach alleiniger Behandlung mit 1000 mg/kg IDPN.

Nach 240 Stunden

Nach 240 Stunden liegt der Kontrollwert der unbehandelten Tiere bei 1961 g. 5 mg/kg Prednisolonacetat täglich erhöhen die Belastungsgrenze nach diesem Zeitraum bis auf 2906 g. Täglich 10 mg/kg AAN zeigen per se keine Wirkung, während im Kombinationsversuch mit 5 mg/kg Prednisolonacetat die gleiche Dosis einen erfaßbaren Senkungseffekt gegenüber Prednisolonacetat erzielt. Nach zehnmaliger Verabfolgung von 100 mg/kg AAN zusammen mit 5 mg/kg Prednisolonacetat ergibt sich ein besonders eindeutiger Antagonismus. Das Ergebnis der Kombinationsbehandlung unterscheidet sich hochsignifikant von den Einzelbehandlungen. Beim Vergleich mit

Reißfestigkeit der Femurepiphyse nfuge von Ratten nach 10 maliger Behandlung mit AAN, MAAN, IDPN und der Kombination mit Prednisolonacetat (PrA) (Dosen in mg/kg)

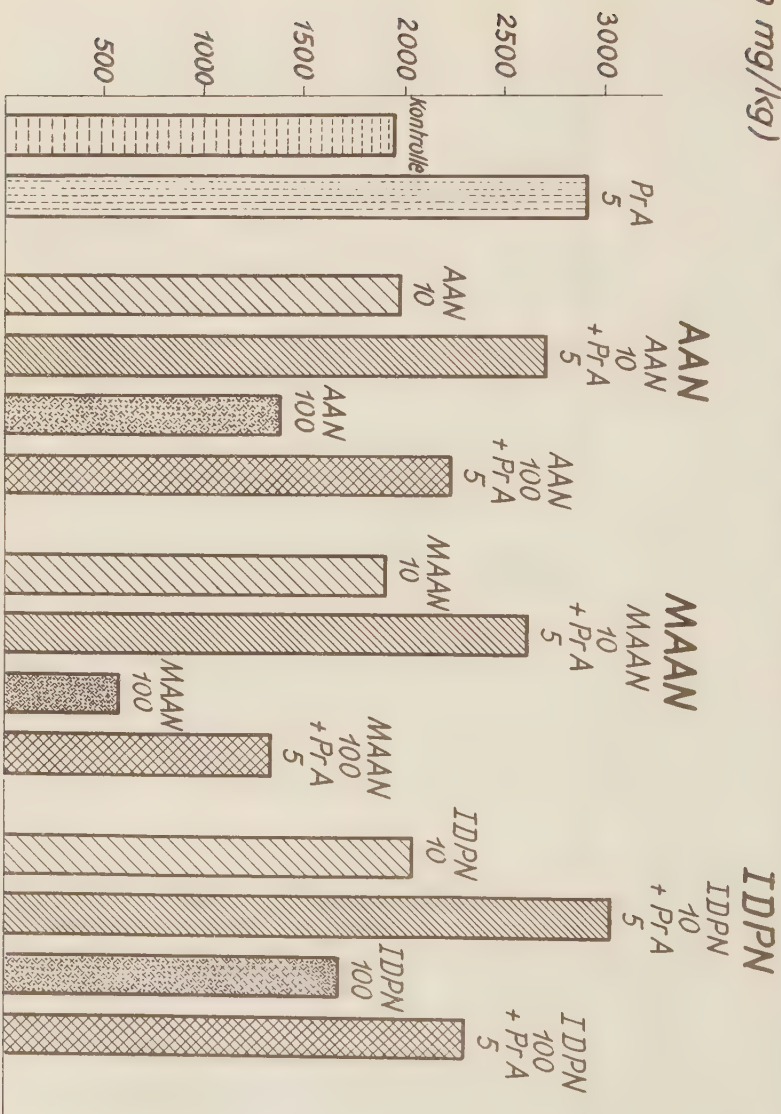


Abbildung 13

Tabelle 8

Beeinflussung der Epiphyse nfugenreife s tigkeit des Rattenfemur unter AAN, MAAN, IDPN und Prednisolonacetat-Kristallsuspension sowie der Kombination beider Substanzen. Versuchsdauer 240 Stunden. n = Anzahl der Tiere, $\bar{x}$ = Mittelwert in g, s = Standardabweichung.

	Abkürzung des verwendeten Nitrils	a) Kontrolle	b) Prednisolonacetat 5 mg/kg s.c.	c) Nitrit 10 mg/kg p.o.	d) Nitrit 10 mg/kg p.o. + Prednisolonacetat 5 mg/kg s.c.	e) Nitrit 100 mg/kg p.o.	f) Nitrit 100 mg/kg p.o. + Prednisolonacetat 5 mg/kg s.c.
n	AAN	30	22	17	25	19	15
$\bar{x}$		1961	2906	1979	2704	1384	2233
s		305	271	347	321	316	293
P zu a			< 0,001	> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,01
P zu b					< 0,05		< 0,001
P zu c					< 0,001		< 0,001
P zu e							< 0,001
n	MAAN	30	22	19	1	23	16
$\bar{x}$		1961	2906	1909	2611	578	1334
s		305	271	373	313	164	374
P zu a			< 0,001	> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001
P zu b					< 0,01		< 0,001
P zu c					< 0,001		< 0,001
P zu e							< 0,001
n	IDPN	30	22	18	14	19	9
$\bar{x}$		1961	2906	2036	3007	1668	2289
s		305	271	307	297	232	366
P zu a			< 0,001	> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,01
P zu b					> 0,05		< 0,001
P zu c					< 0,001		< 0,001
P zu e							< 0,001

der Leerkontrolle zeigt sich, daß der Prednisoloneffekt überwiegt.

Nach täglich 10 mg/kg MAAN finden sich nach 240 Stunden ähnliche Verhältnisse wie bei AAN. Diese Dosis ändert auch bei MAAN die Belastungsgrenze gegenüber der Kontrolle nicht eindeutig. Im Kombinationsversuch mit 5 mg/kg Prednisolonacetat täglich, erniedrigt sie jedoch den Reißwert gegenüber dem Hormon alleine signifikant. 100 mg/kg MAAN täglich p.o. über 240 Stunden senken die Belastungsgrenze so stark, daß im Kombinationsversuch nicht nur der Wert der alleinigen Prednisolonacetatgabe auf weniger als die Hälfte reduziert wird, sondern auch noch eine kräftige Senkung gegenüber der unbehandelten Kontrolle vorhanden ist.

Wenn 10 mg/kg IDPN 10 Tage lang gegeben werden, so vermag diese Dosis weder per se die Reißfestigkeit zu vermindern, noch den Effekt von gleichzeitig gegebenen Prednisolonacetat zu antagonisieren. Wohl dagegen ist dies bei einer täglichen Gabe von 100 mg/kg p.o. der Fall. Aber auch hier ist bei sicherer Erniedrigung gegenüber den Prednisolonacetat-Kontrollen der Meßwert der Kombinationsbenutzung immer noch gegenüber den Leerkontrollen erhöht.

5) Adrenalektomie

Wenn die Symptome der Vergiftung durch lathyrogene Substanzen durch Corticoide gemildert werden, ist eine Steigerung der Wirksamkeit der lathyrogenen Nitrile nach Adrenalektomie zu erwarten. Von VOGEL (1964) konnte gezeigt werden, daß durch Adrenalektomie die Reißfestigkeit der Femurepiphyse erniedrigt wird. Bei der hier vorliegenden Arbeit verglichen wir die Femur-Belastungsgrenzen von adrenalektomierten Tieren, die täglich 100 mg/kg AAN p.o. erhielten mit der Femurreißfestigkeit von nicht operierten Tieren nach der gleichen Dosis AAN und von adrenalektomierten Tieren, denen wir kein Präparat verabfolgten. Die Versuchs-

dauer betrug entsprechend einer 1,3 oder 7maligen Verabfolgung 24, 72 und 168 Stunden. Abbildung 14 zeigt den zeitlichen Verlauf der Reißwerte gegenüber den Kontrollen. Auf Tabelle 9 ist die statistische Berechnung wiedergegeben.

Nach 24 Stunden zeigt sich bei den adrenaletomierten Tieren und in einem noch etwas stärkeren Maße bei der nicht operierten Gruppe, der wir 100 mg/kg AAN verabfolgten, eine deutliche Senkung des Reißwertes gegenüber der Kontrolle. Gaben wir 100 mg/kg AAN an operierte Ratten, so erfolgte eine weitere Senkung. Diese weitere Festigkeitsabnahme ist sowohl gegenüber den nur adrenaletomierten Tieren als auch gegenüber den nur mit AAN behandelten Tieren abzugrenzen.

Nach 72 Stunden (dreimalige Verabfolgung von AAN) finden wir ähnliche Verhältnisse. Die Werte nach täglich 100 mg/kg AAN bei operierten und nicht operierten Tiere sind hier entsprechend der längeren Behandlungsdauer starker erniedrigt. Ebenso zeigen adrenaletomierte Ratten nach diesem Zeitraum eine weitere Erniedrigung der Reißfestigkeit der Epiphysenfuge. Die Werte der mit AAN behandelten adrenaletomierten Tiere sind sowohl niedriger als die der nur behandelten als auch der nur adrenaletomierten Tiere.

Nach 168 Stunden (7 Tagen) zeigt sich bei der adrenaletomierten Gruppe weiterhin eine Erniedrigung des Reißwertes gegenüber den Kontrollen. Der Wert nach siebenmaliger Verabfolgung von 100 mg/kg AAN liegt hier höher als in anderen Versuchsreihen, ist jedoch weit gegenüber den unbehandelten Kontrollen erniedrigt. Die 7malige Behandlung von adrenaletomierten Tieren mit AAN ergibt minimale Reißwerte. Wiederum ist ein additiver Effekt der Adrenaletomie und der AAN-Behandlung zu verzeichnen.

Reißfestigkeit der Femurepiphysenfuge an Ratten nach Adrenalektomie und Gabe von AAN

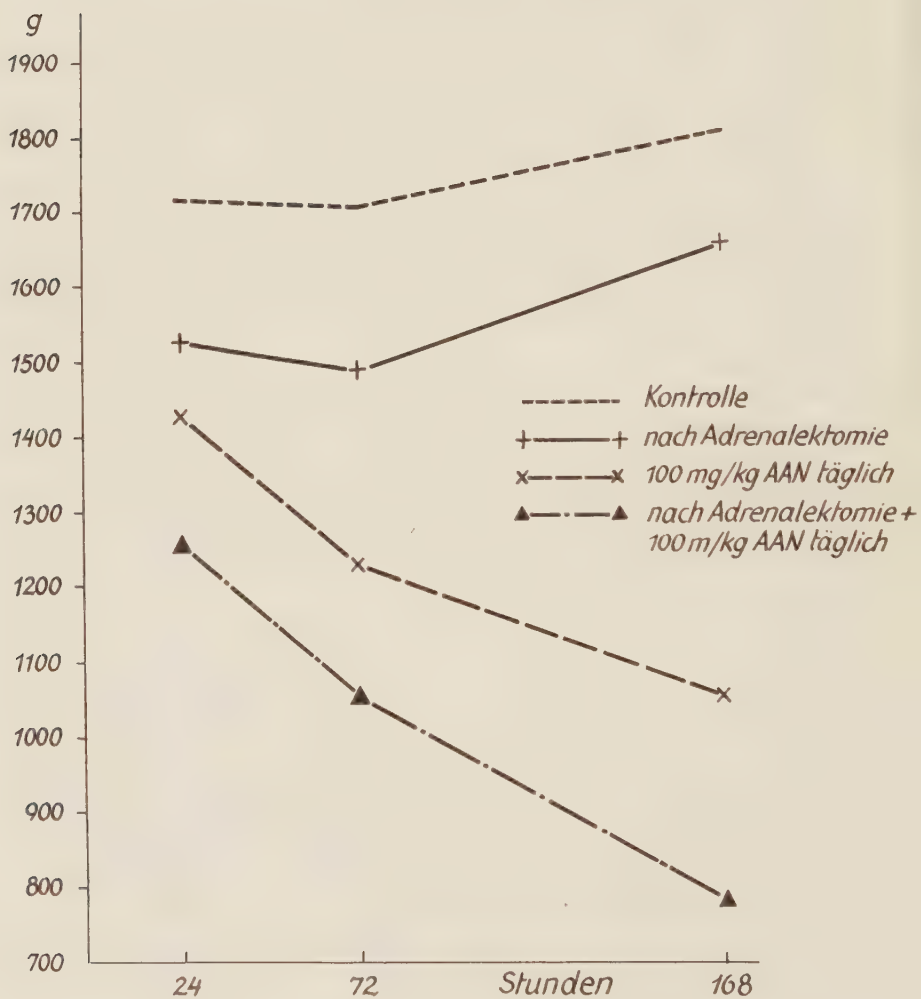


Abbildung 14

Tabelle 9

Reißfestigkeit der Femurepiphyse nach Adrenalektomie und AAN.
Tötung der Tiere nach 24, 72 und 120 Stunden. n = Anzahl der Tiere,
 $\bar{x}$ = Mittelwert in g, s = Standardabweichung.

	a) Kontrolle	b) Adrenalektomierte Tiere	c) 100 mg/kg AAN p.o. an nicht operierte Tiere	d) 100 mg/kg AAN p.o. an adrenalektomierte Tiere
Nach 24 Stunden				
n	30	22	50	16
$\bar{x}$	1714	1525	1427	1256
s	182	135	189	264
P zu a		< 0,001	< 0,001	< 0,001
P zu b				< 0,001
P zu c				< 0,01
Nach 72 Stunden				
n	30	21	19	21
$\bar{x}$	1703	1490	1228	1054
s	167	207	195	223
P zu a		< 0,001	< 0,001	< 0,001
P zu b				< 0,001
P zu c				< 0,05
Nach 168 Stunden				
n	30	22	19	18
$\bar{x}$	1806	1657	1478	786
s	189	316	260	269
P zu a		< 0,05	< 0,001	< 0,001
P zu b				< 0,001
P zu c				< 0,001

C) Einfluß von Schilddrüsenhormonen und von Thyreoparathyreoidektomie

A) l-Trijodthyronin

Nach 24 Stunden

Aus früheren Untersuchungen (VOGEL und THER 1963 a , VOGEL, 1964) ist bekannt, daß die Festigkeit des Bindegewebes reduziert wird, wenn man ein oder wenige Male Schilddrüsenhormone injiziert. Es war somit zu erwarten, daß Schilddrüsenhormone die Festigkeitsabnahme unter der Vergiftung mit lathyrogenen Substanzen verstärken würde. Wie Abb. 15 und Tabelle 10 zeigen, konnte dies bestätigt werden. 24 Stunden nach s.c. Injektionen von Schilddrüsenhormonen (1 mg/kg l-Trijodthyronin) sind die Festigkeitswerte ebenso wie nach oraler Gabe von AAN erniedrigt. Die hohe Nitrildosis von 1000 mg/kg bewirkt eine stärkere Senkung als 1 mg/kg l-Trijodthyronin. Dieser Wert wird durch gleichzeitige l-Trijodthyronin-Gabe noch stärker erniedrigt, d.h. die Effekte von Schilddrüsenhormonen und lathyrogenen Substanzen addieren sich.

Nach 120 Stunden

Die durch Schilddrüsenhormone verursachte Festigkeitsminderung läßt nach mehrmaliger Injektion nach, um schließlich ins Gegenteil umzuschlagen (VOGEL, 1964). Nach 5maliger s.c. Injektion von 1 mg/kg l-Trijodthyronin sind die Reißwerte zwar noch erniedrigt, jedoch nicht so sehr wie nach einmaliger Injektion. Dagegen bewirkt die 5malige Gabe von 100 mg/kg AAN eine stärkere Senkung als die einmalige Fütterung von 100 mg/kg. Die zusätzliche Injektion von Schilddrüsenhormonen neben der AAN-Fütterung vermag die Festigkeitswerte nicht mehr weiter zu senken.

B) Thyreoparathyreoidektomie

In früheren Untersuchungen (VOGEL, 1964) wurde gezeigt, daß Thyreoparathyreoidektomie die Belastungsgrenze der Femur-

Reißfestigkeit der Femurepiphyse an Ratten nach Gabe von AAN, l-Trijodthyronin sowie der Kombination beider Substanzen

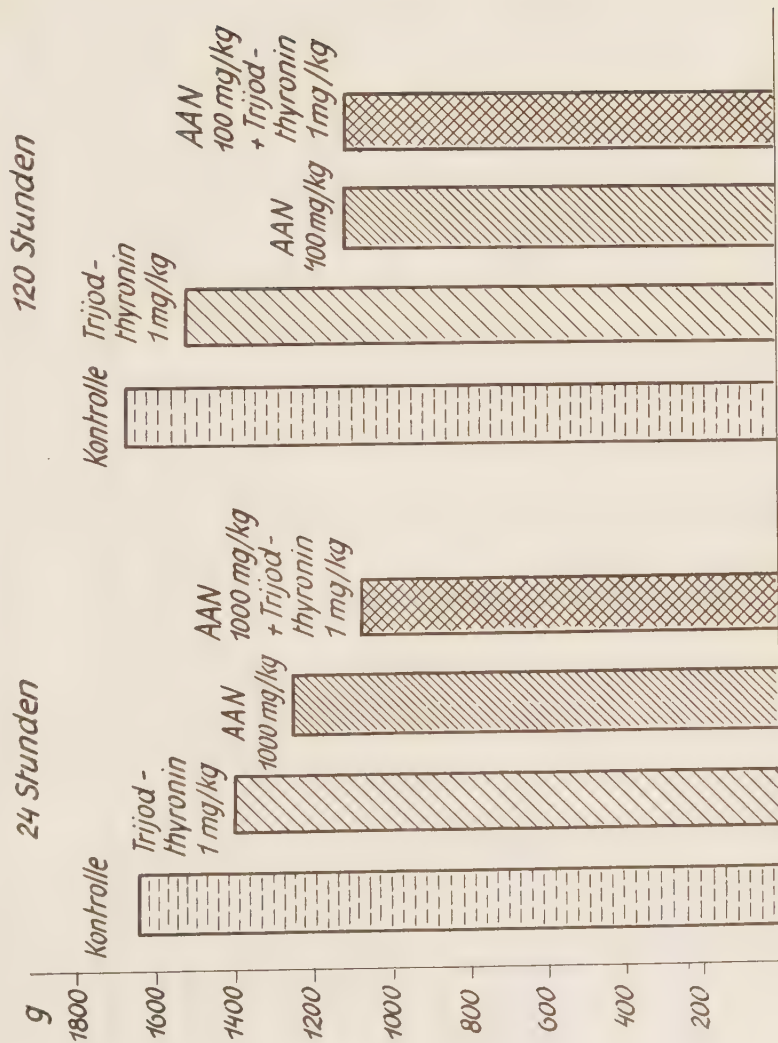


Abbildung 15

Tabelle 10

Relbstfestigkeit der Femurepihyseufuge an Ratten nach Gabe von AAN, 1-Trijodthyronin sowie der Kombination dieser beiden Substanzen. n = Anzahl der Tiere, $\bar{x}$ = Mittelwert in g, s = Standardabweichung.

		^a Kontrolle	^b 1-Trijod- thyronin 1 mg/kg s.c.	^c A A N 100 mg/kg p.o.	^d AAN 100 mg/kg p.o. + 1-Trijod- thyronin 1 mg/kg s.c.	^e A A N 1000 mg/kg p.o.	^f AAN 1000 mg/kg p.o. + 1-Trijod- thyronin 1 mg/kg s.c.
24 Stunden	n $\bar{x}$ s p zu a p zu b p zu c	20 1655 218	20 1405 178 < 0,001	20 1110 223 < 0,001 < 0,001	20 1105 189 < 0,001 < 0,001 > 0,05	20 1255 248 < 0,001 < 0,05	20 1088 146 < 0,001 < 0,001 < 0,05
120 Stunden	n $\bar{x}$ s p zu a p zu b p zu c	20 1675 148	20 1520 135 < 0,001	20 1110 223 < 0,001 < 0,001	20 1105 189 < 0,001 < 0,001 > 0,05		

epiphysenfuge erhöht. Andererseits verstärkt diese Operation die osteolathyrogenen Veränderungen (SELYE, 1957 b). Entsprechend den Untersuchungen mit adrenaletomierten Tieren töteten wir die Tiere nach 24, 72 und 168 Stunden. Den zeitlichen Verlauf der Reißwerte gegenüber den Kontrollen zeigt Abb. 16. Die statistischen Berechnungen sind auf Tabelle 11 aufgezeichnet.

Nach 24 Stunden ist die Reißfestigkeit bei thyreoparathyreoidectomierten Tieren erhöht. 100 mg/kg AAN zeigt bei operierten Tieren fast die gleiche Wirkung in Bezug auf die Reißfestigkeit der Femurepiphyse wie bei normalen, d.h. die Thyreoparathyreoidectomie vermag den Effekt von AAN nicht sicher abzuschwächen.

Nach 72 Stunden ist die Belastungsgrenze der Femurepiphysenfuge bei thyreoparathyreoidectomierten Ratten besonders deutlich erhöht. Der Wert nach Gabe von täglich 100 mg/kg AAN ist entsprechend den Erwartungen nach den Dosenwirkungskurven gesenkt. Verabfolgt man diese Dosis an operierte Tiere so ist die AAN Wirkung abgeschwächt, doch ist dieser Unterschied statistisch nicht zu sichern.

Nach 168 Stunden ist die Reißfestigkeit der operierten Tiere gegenüber den Kontrollen nur noch mäßig erhöht. Nach Gabe von 100 mg/kg AAN an operierte Tiere zeigt sich etwa der gleiche Reißwert wie unter 100 mg/kg an nicht operierte Tiere. Allerdings liegt der letzte Wert im Vergleich zu den Ergebnissen bei den Dosenwirkungsbeziehungen etwas zu hoch.

B) Reißversuche an der isolierten Rattenschwanzsehne

Untersuchungen der Reißfestigkeit an der isolierten Rattenschwanzsehne (VOGEL und THER, 1963 a, VOGEL, 1964) haben gezeigt, daß die Veränderungen unter Hormoneinfluss an diesem Versuchsobjekt gleichsinnig mit den Erniedrigungen oder Erhöhungen der Belastbarkeit der distalen Femurepiphysen-

*Reißfestigkeit der Femurepiphysealfuge an Ratten
nach Thyreo-Parathyreoidektomie und Gabe von AAN*

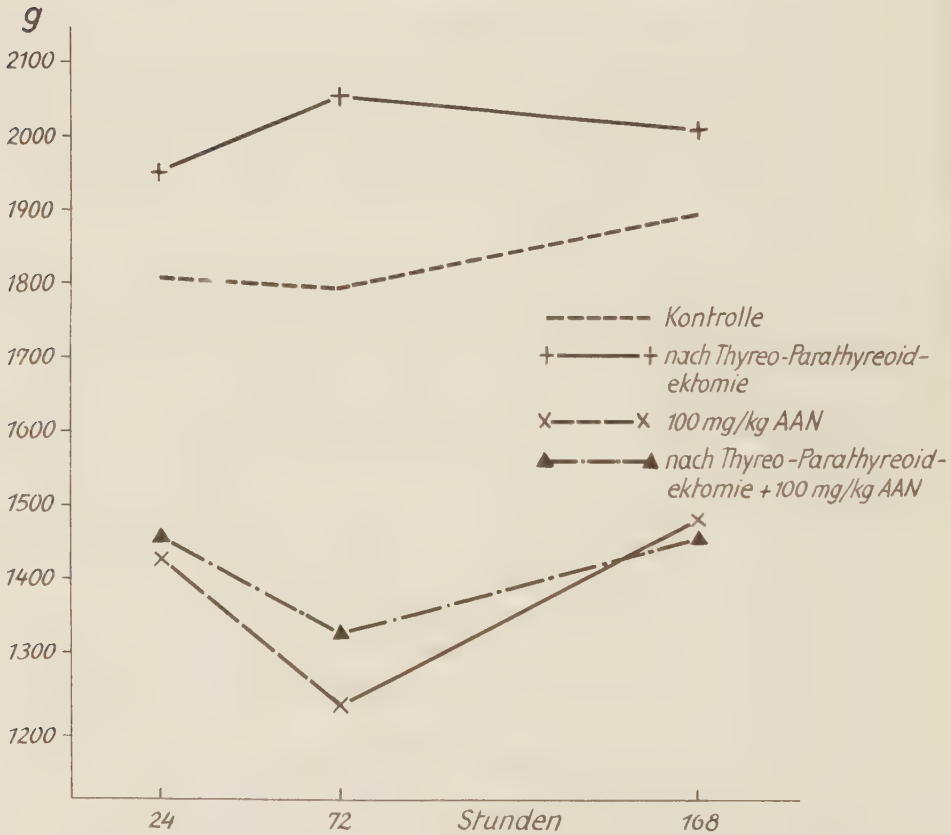


Abbildung 16

Tabelle 11

Reißfestigkeit der Femurepiphyse nach Thyreoparathyreoidektomie und AAN. Fötung der Tiere nach 24, 72 und 168 Stunden. n = Anzahl der Tiere, $\bar{x}$ = Mittelwert in g, s = Standardabweichung.

	a) Kontrolle	b) Thyreoparathyreoidek- tomierte Tiere	c) 100 mg/kg AAN p.o. an nicht operierte Tiere	d) 100 mg/kg AAN p.o. an thyreoparathyreoidektomierte Tiere
Nach 24 Stunden				
n	30	20	50	20
$\bar{x}$	1806	1950	1427	1455
s	195	229	189	147
P zu a		< 0,05	< 0,001	< 0,001
P zu b				< 0,001
P zu c				> 0,05
Nach 72 Stunden				
n	30	19	19	18
$\bar{x}$	1789	2051	1228	1325
s	205	217	195	203
P zu a		< 0,001	< 0,001	< 0,001
P zu b				< 0,001
P zu c				> 0,05
Nach 168 Stunden				
n	30	19	19	18
$\bar{x}$	1887	2001	1478	1450
s	197	282	260	335
P zu a		> 0,05	< 0,001	< 0,001
P zu b				< 0,001
P zu c				> 0,05

fuge ablaufen. Es wurde deshalb auch der Einfluss einer lathyrogenen Substanz, in diesem Falle AAN, auf die Festigkeit von präparierten Schwanzsehnen mit einem Durchmesser von 0,25 mm untersucht.

Nach Applikation von 10 und 100 mg/kg AAN (Tabelle 12) zeigte sich nach 24 Stunden noch keine signifikante Wirkung.

Nach zehnmaliger Verabfolgung (Behandlungsdauer 240 Stunden) ist eine Senkung der Reißfestigkeit bereits unter 10 mg/kg AAN gegenüber der Kontrolle statistisch zu sichern. 100 mg/kg täglich führen nach diesem Zeitraum zu einer weiteren deutlichen Erniedrigung der Belastungsgrenze der isolierten Rattenschwanzsehne.

In einer weiteren Versuchsserie über 240 Stunden nannten wir Reißfestigkeitsprüfungen mit allen Sehnen aus einem der beiden dorsalen Sehnenbündel des Rattenschwanzes vor. Hierbei ergibt die Verteilung der Sehnendurchmesser eine nahezu symmetrische Kurve (Abbildung 17; Tabelle 13). Der durchschnittliche Durchmesser der 84 Kontrollwerte liegt bei 0,29 mm. Nach täglich 100 mg/kg AAN liegt er bei 0,30 mm. Der Unterschied ist nicht signifikant. Die schmalsten Sehnen liegen in unseren Versuchen bei 0,19 mm, die dicksten bei 0,39 mm Durchmesser. Die Reißwerte in den einzelnen Durchmessergruppen liegen unter täglich 100 mg/kg AAN in allen Fällen unter der Belastungsgrenze der entsprechenden Kontrollgruppe (Abbildung 18; Tabelle 13).

C) Reißversuche an Aortenringen

Gleichzeitig mit den Femurreißversuchen führten wir mit einigen Gruppen der 100 - 120 g schweren Ratten Untersuchungen über die Reißfestigkeit von Aortenringen durch. Wir prüften die drei lathyrogenen Nitrile AAN, MAAN und IDPN.

Tabelle 12

Reißfestigkeit isolierter Rattenschwanzsehn von 0,25 mm Durchmesser nach 24 und 240 Stunden. n = Anzahl der Ratten, $\bar{x}$ = Mittelwert in g, s = Standard-abweichung.

	Kontrolle	AAN 10 mg/kg p.o.	AAN 100 mg/kg p.o.
Nach 24 Stunden			
n	85	39	92
$\bar{x}$	81,9	74,5	80,1
s	25,2	14,0	20,8
P zu Kontrolle		> 0,05	> 0,05
Nach 240 Stunden			
n	32	33	34
$\bar{x}$	92,3	84,4	67,6
s	17,4	10,1	19,3
P zu Kontrolle		< 0,05	< 0,001

Häufigkeitsverteilung des Durchmessers von Rattenschwanzsehnen

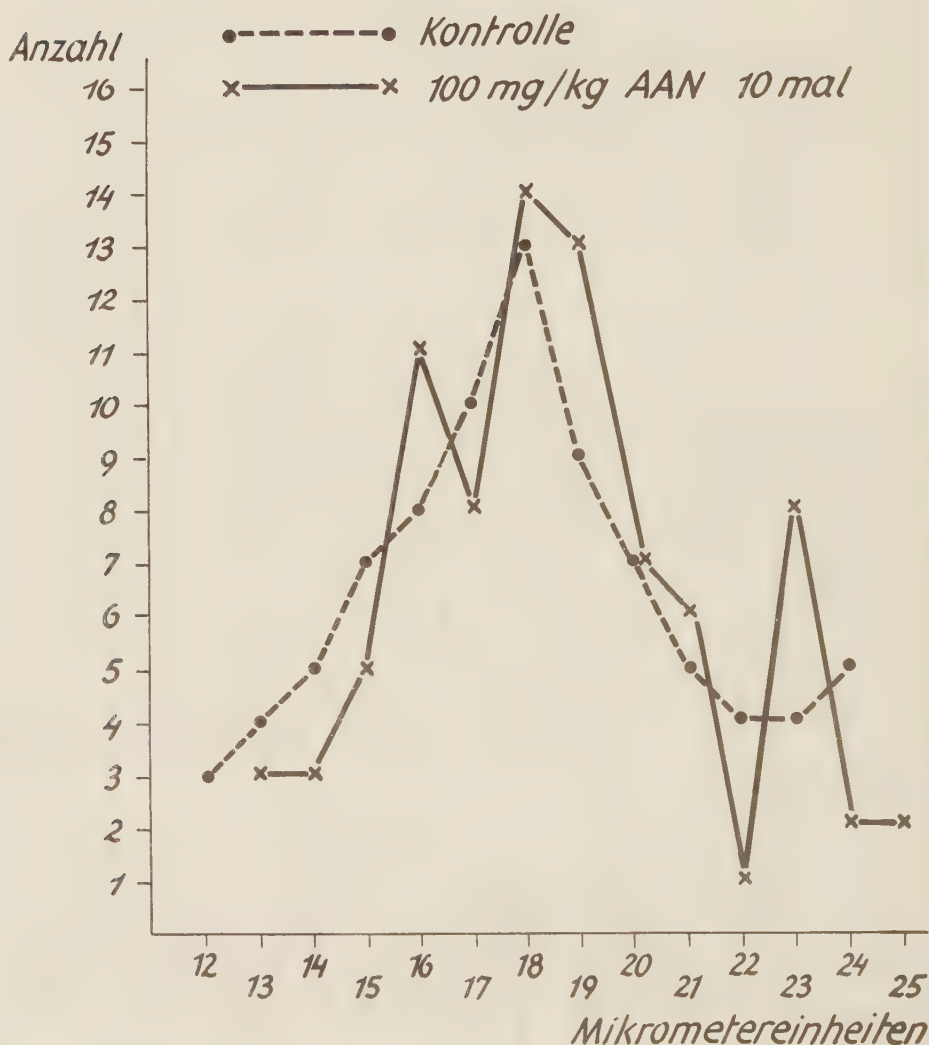


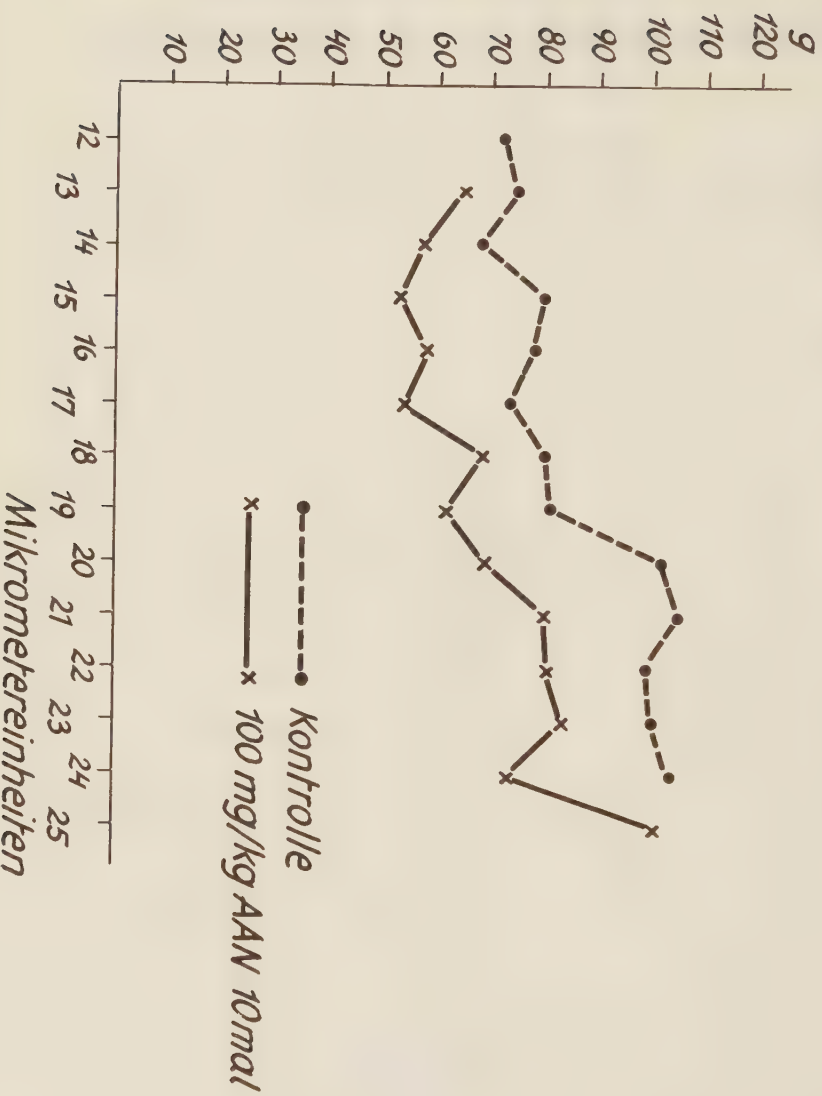
Abbildung 17

Tabelle 13

Sehnenreißversuch
Kontrolle

Durchmesser in Einheiten des Okularmikrometers	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	Gesamtwerte	Durchmesser (Einheiten)	Reißfestigkeit (g)
Reißfestigkeit (g)	55	50	80	65	115	90	125	115	135	140	65	90	130		n	84	84
	65	75	75	75	70	95	65	65	65	95	85	120	85		x	17,99	84,1
	95	105	60	70	75	65	55	80	80	110	135	75	85		s	3,12	24,19
	65	60	75	135	85	95	105	100	110	110	115	115	120				
	65	65	80	65	80	65	85	100	70				55				
			65	60	50	55	95	115									
			50	65	45	85	50	110									
			45	80	80	95	65										
			70	75		70	75										
						90	90										
						80	75										
$\bar{x}$	71,7	73,8	68,0	80,0	73,8	74,0	80,0	81,1	100,7	105,0	96,8	100,0	103,0				
Nach 10 maliger Behandlung mit 100 mg/kg A A E																	
Durchmesser in Einheiten des Okularmikrometers	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	n	83	83
Reißfestigkeit (g)	95	65	55	55	55	55	80	60	50	115	80	105	75	70	x	18,52	66,57
	35	60	65	50	80	105	55	120	65	45	60	90	70	130	s	2,83	21,75
	65	45	45	40	45	45	65	90	60			80			P	0,05	< 0,001
	60	40	70	105	60	60	100	80							Zu Kontrolle		
	40	45	40	60	50	50	75	80				60					
			90	50	55	55	60	65				125					
			60	45	110	45		80				80					
			40		60		80	65									
			60		60		70	55									
			50				75	80									
							50	80									
							40	55									
$\bar{x}$	69,0	56,7	53,0	58,2	54,4	63,5	61,6	69,3	80,0	80,0	83,1	73,5	100				

Reißfestigkeit von Rattenschwanzsehnen in Abhängigkeit vom Durchmesser



a) AAN

Nach 24 Stunden entsprechen die Werte unter 100 und 1000 mg/kg AAN etwa der Gesamtkontrolle (97 g). Beim 48-Stunden-Wert (zweimalige Verabfolgung) zeigt sich nach 10 mg/kg täglich keine Wirkung, während nach 100 mg/kg eine Senkung der Belastungsgrenze auf 83 g erfolgt. Dieser Unterschied ist jedoch nicht statistisch zu sichern. Nach zehnmaliger Verabfolgung (Behandlungsdauer 240 Stunden) liegt der Reißwert der Aortenringe unter 10 mg/kg auf der Höhe der Kontrolle, während unter 100 mg/kg eine Erniedrigung auf 79 g erfolgt. Da jedoch nur die Aorten von 9 Tieren bei dieser Dosis geprüft wurden, ist auch hier der Unterschied zur Kontrolle nicht signifikant.

b) MAAN

Bei MAAN wo die Wirkung der gleichen Dosen bei gleichen Behandlungszeiten untersucht wurden, zeigte sich nur unter 10 mg/kg beim 24-Stunden-Wert eine geringfügige Senkung der Reißfestigkeit der Aortenringe. Nach 48 Stunden und unter täglich 10 mg/kg nach 120 Stunden zeigte sich keinerlei Wirkung. Die übrigen Werte nach 120 und 240 Stunden waren geringfügig erhöht.

c) IDrN

Bei der dritten geprüften Substanz, IDrN, finden wir nur bei fünfmaliger Verabfolgung von 10 mg/kg (120 Stunden) eine Senkung des Reißwertes auf 74 g. Da jedoch zu dieser Gruppe nur 5 Tiere gehören, ist der Unterschied zur Kontrolle nicht signifikant.

V. Diskussion

A) Gegenüberstellung morphologischer und klinischer Veränderungen beim Lathyrismus mit den Ergebnissen nach physikalisch-mechanischen Untersuchungen

1) Femurepiphyseinfuge

Die hier vorliegenden Untersuchungen bindegewebiger Substanzen mit physikalisch-mechanischen Methoden erlauben in einfacher Weise quantitative Vergleiche, was bei morphologischen Veränderungen nur schwer möglich ist. Morphologische Veränderungen bedürfen längerer Einwirkungszeit und hoher Dosen, um sichtbar zu werden.

SELYE (1957 b) fand bei seinen Untersuchungen mit 100 g schweren Ratten bei einer Dosierung von 100 mg/kg täglich die ersten klinischen Zeichen nach etwa einer Woche, wobei die ersten palpatorischen Befunde am Kniegelenk und an der Mandibula zu erheben waren. Bei den vorliegenden funktionellen Untersuchungen zeigte sich bei AAN und MAAN nach 24 Stunden ab einer Konzentration von 31 mg/kg eine signifikante Wirkung. Bei sehr jungen Tieren von 40 g konnten FOLLIS und TOUSIMIS (1958) bei einmaliger Verabfolgung von 50 mg/kg AAN schon nach 24 Stunden am Epiphyseknorpel histologische Veränderungen feststellen.

Bei Untersuchungen mit IDPN wurden nach einer Dosierung von täglich 200 mg/kg oder einmal 1000 mg/kg nach etwa 3 Tagen die ersten neuromotorischen Störungen beobachtet und nach 5 Tagen war das ECC-Syndrom deutlich entwickelt. Dagegen fanden sich keine Skelettveränderungen oder nur äußerst geringe Anzeichen von Osteolathyrismus (SELYE, 1957 b).

Bei unseren physikalisch-mechanischen Prüfungen von Bindegewebe trat jedoch auch bei diesem Nitril schon nach 24 Stunden die erste signifikante Wirkung bei einer Konzentration von 100 mg/kg auf.

Vergleicht man die Wirkung der drei geprüften Nitrile untereinander in Bezug auf die morphologische Veränderungen am Skelett, so findet man, daß MAAN noch wirkungsvoller als AAN ist (PONSETI et al., 1956), während IDPN kaum eine osteolathyrogene Wirkung besitzt (SELYE, 1957 b). BIGGERS und SCHRYVER (1964), die nach invitro-Untersuchungen mit embryonalen Hühnerknochen durch Messung von Länge und Gewicht der Organkulturen Dosenwirkungskurven der geprüften Nitrile aufstellten, zeigten ebenfalls, daß MAAN bei ihren 5 Tage dauernden Versuchen stärker wirkt als AAN.

Bei unseren physikalisch-mechanischen Untersuchungen fanden sich teilweise andere Befunde. Zwar hatte auch hier IDPN durchweg die geringste Wirksamkeit, aber MAAN zeigte eine stärkere Festigkeitsminderung des Bindegewebes gegenüber AAN nur bei den Versuchen über 120 und 240 Stunden. Nach kurzdauernder Einwirkungszeit von 24 Stunden senkte jedoch umgekehrt AAN bei den höheren Konzentrationen von 310 und 1000 mg/kg die Belastungsgrenze der Femurepiphysefuge stärker als MAAN.

2) Isolierte Rattenschwanzsehne

Die Beobachtung, daß lathyrogene Substanzen am rasch wachsenden Gewebe besonders starke Veränderungen bewirken, ließ sich auch durch unsere Festigkeitsmessungen bestätigen. Während wir an der rasch wachsenden Femurepiphysefuge junger Ratten nach einer AAN-Dosis von 31 mg/kg schon nach 24 Stunden eine signifikante Abnahme der Reißfestigkeit feststellen konnten, fanden wir bei der

Zugfestigkeitsprüfung der isolierten Schwanzsehne, die einen langsameren Stoffwechsel hat, auch bei Erhöhung auf 100 mg/kg nach dem gleichen Zeitraum noch keine signifikante Wirkung. Jedoch führte eine zehnmalige Verabfolgung von 10 bzw. 100 mg/kg täglich zu einer eindeutigen Senkung der Belastungsgrenze.

3) Aortenringe

Bei unseren Festigkeitsprüfungen von Aortenringen 100 g schwerer Ratten zeigten sich im Gegensatz zu den Untersuchungen von LYKKE et al. (1960), die die Reißfestigkeit von Mäuseaorten untersuchten, keine signifikante Wirkung der geprüften lathyrogenen Nitrile. (Die Arbeit von LEVENE und GROSS, 1959 und LEVENE, 1961, die die Belastungsgrenze von embryonalen Hühnchenaorten prüften, lassen sich nicht mit unseren Ergebnissen bei 100 g schweren Ratten vergleichen.)

Für das Ausbleiben einer Reißfestigkeitsänderung sind wohl verschiedene Gründe verantwortlich. LYKKE gab drei Wochen alten Mäusen während eines Zeitraumes von 21 Tagen 5 mg β -Aminopropionitril d.h. 250 - 500 mg/kg (BAPN) pro Tier, die höchste Dosis, die über diesen Zeitraum gegeben werden konnte, ohne eine signifikante Mortalität zu erzeugen. Dagegen betrug unsere höchste Dosis 100 mg/kg AAN (ein bedeutender Unterschied zwischen AAN und BAPN bezüglich der Wirkung auf das Gefäßbindegewebe ist nicht anzunehmen) während einer maximalen Verabfolgungsdauer von 240 Stunden. Da FONSETI und SHEPARD (1954), die nach einer 50-prozentigen Lathyrus-odoratus-Diät bei sehr jungen Ratten in 75% der Fälle nach 5 Wochen Aortenaneurysmen beobachteten, bei Tieren, die am Behandlungsbeginn älter als 50 Tage waren, keine Aneurysmen mehr fanden, zeigt sich hier wieder die starke Altersab-

hängigkeit der Untersuchungen beim experimentellen Lathyrismus. Offenbar war bei unseren 100 g schweren Versuchstieren die Dosis(maximal 100 mg/kg AAN taglich) und die Einwirkungszeit (maximal 10 Tage) zu gering, um eine signifikante Änderung der Reißfestigkeit des Gefäßbindegewebes zu verursachen.

B) Beeinflussung lathyrogener Substanzen durch Hormone

1) STH

SELYE (1957 b) fand bei seinen Versuchen mit STH eine Verstärkung der Wirkung von AAN. Dosen von AAN, die sonst nur gerade feststellbare Veränderungen auslösen, verursachen in Kombination mit diesem Hormon das Bild eines ausgeprägten Osteolathyrismus. Eine signifikante Wirkung von STH zeigte sich bei unseren funktionellen Prüfungen schon nach 24 Stunden. Nach diesem Zeitraum bewirkte 1 mg/kg Wachstumshormon, das gleichzeitig mit 100 mg/kg AAN verabfolgt wurde, eine signifikante Senkung der Reißfestigkeit der Femurepiphysenfuge gegenüber der Tiergruppe, die nur 100 mg/kg AAN erhielt. Nach 120 Stunden zeigte sich eine signifikante zusätzliche Senkung der Belastungsgrenze schon unter 0,1 mg/kg Wachstumshormon, das jeweils zusammen mit 10 mg/kg AAN verabfolgt wurde.

2) Prednisolonacetat und Adrenalektomie

a) Prednisolonacetat

Die Schutzwirkung die Cortisol gegenüber dem Auftreten der Knochen- und Gelenkserkrankungen nach Verabfolgung von AAN besitzt, zeigte sich auch bei den funktionellen Prüfungen. Bei unseren Prüfungen benutzten wir statt des Cortisols das rund 4 mal stärkere Prednisolonacetat. VOGEL und THER (1963 a und b) konnten in früheren Untersuchungen zeigen, daß

Prednisolonacetat die Reißfestigkeit der Femurepiphyse in starkem Maße erhöht.

Die Wirkung von AAN und MAAN ist unter einer Dosis von 100 mg/kg im Kombinationsversuch mit Prednisolonacetat deutlich stärker, als wenn man die beiden lathyrogenen Substanzen alleine verabreicht. Denn obgleich die Wirkung von 5 mg/kg Prednisolonacetat, die zu einer Erhöhung der Festigkeit des Bindegewebes führt, viel ausgeprägter als die Reißfestigkeitsminderung von AAN und MAAN in Erscheinung tritt, zeigt sich im Kombinationsversuch beider Nitrile keine Erhöhung der Belastungsgrenze über die Kontrolle. In einer zweiten Versuchsserie über 24 Stunden erhöhten wir die Nitrildosis auf 1000 mg/kg, während wir die Dosis von 5 mg/kg Prednisolonacetat beibehielten. Bei der Prüfung der Nitrile alleine hatte hier AAN die stärkste Wirkung. Im Kombinationsversuch war jedoch die Wirkung von MAAN deutlicher, das, zusammen mit Prednisolonacetat verabfolgt, die Belastungsgrenze signifikant erniedrigte, während diese bei AAN und IDPN - ebenfalls mit Prednisolonacetat - etwa dem Kontrollwert entsprach.

Nach 24 Stunden (10malige Verabfolgung) zeigte sich unter 10 mg/kg der geprüften Nitrile im Vergleich zur Kontrolle kaum eine Veränderung. Demgegenüber fand sich im Kombinationsversuch mit Prednisolonacetat bei AAN und MAAN gegenüber der Tiergruppe, die nur 5 mg/kg Prednisolonacetat erhielt, eine signifikante Wirkung. Auch hier war wieder zu erkennen, daß AAN und MAAN im Kombinationsversuch mit Prednisolonacetat eine deutlichere Wirkung zeigen, als wenn sie alleine gegeben werden.

Sowohl im 24-Stunden-Versuch als auch im 240-Stunden-Versuch hielten wir eine Gruppe von Tieren, denen wir täglich 100 mg/kg der Nitrile zusammen mit 5 mg/kg Prednisolonacetat verabfolgten. Vergleichen wir die Ergebnisse nach einmaliger mit denen nach zehnmaliger Fütterung, so findet sich eine Veränderung der Wirksamkeit der geprüften Sub-

stanzen bei Verlängerung der Applikationsdauer von 24 auf 240 Stunden. Nach 24 Stunden waren die Reißwerte im Kombinationsversuch für AAN und MAAN etwa so hoch wie bei der Kontrolle, während bei der IDPN-Gruppe die Belastungsgrenze erhöht war. Nach zehnmaliger Verabfolgung der gleichen Nitril- und Prednisolonacetat-Dosis zeigte Prednisolon gegenüber AAN eine stärkere antagonistische Wirkung als nach 24 Stunden, da der Reißwert deutlich gegenüber der Kontrolle anstieg. Dagegen war bei MAAN, das nach 10 Tagen eine deutlich stärkere Wirkung als AAN entfaltete, die Belastungsgrenze bei gleichzeitiger Verabfolgung von Prednisolonacetat stark gesenkt. Bei der dritten geprüften Substanz, IDPN, waren die Verhältnisse ähnlich wie nach 24 Stunden. Der Reißwert im Kombinationsversuch war im Vergleich zur Kontrolle erhöht.

b) Adrenalektomie

Dieser Antagonismus von Cortisol und Prednisolonacetat gegenüber AAN ließ sich auch durch Untersuchungen mit adrenalectomierten Ratten bestätigen, die einen niedrigeren Reißwert als die unbehandelten Kontrollen zeigten. Nach 100 mg/kg AAN täglich fand sich bei drei Versuchsgruppen (24, 72 und 168 Stunden Verabfolgungsdauer) bei adrenalectomierten Tieren eine zusätzliche signifikante Erniedrigung der Epiphyseureißfestigkeit gegenüber nicht operierten, nur mit AAN behandelten Tieren.

2) 1-Trijodthyronin und Thyreoparathyreoidektomie

a) 1-Trijodthyronin

Bei den Kombinationsversuchen mit AAN und 1-Trijodthyronin fand sich nach einmaliger Verabfolgung und Tötung nach 24 Stunden eine zusätzliche Senkung der Reißfestigkeit der Femurepiphysenfuge gegenüber den Tieren, die nur AAN erhielten. Dies war zu erwarten, da frühere Untersuchungen

zeigten (VOGEL und THER, 1963 a und VOGEL 1964), daß, wenn man ein oder mehrere Male Schilddrüsenhormon injiziert, die Festigkeit des Bindegewebes vermindert wird. Dieser Effekt des Schilddrüsenhormons nimmt nach mehreren Injektionen ab und schlägt bei weiterer Zuführung des Hormons in eine gegenteilige Wirkung um. Nach 120 Stunden (fünfmalige Verabfolgung) fand sich bei den Tieren, die nur l-Trijodthyronin erhielten, eine Erniedrigung der Belastungsgrenze. Im Kombinationsversuch mit AAN war jedoch gegenüber der Tiergruppe, die nur AAN erhielt, keine weitere Senkung der Belastungsgrenze vorhanden.

Unsere Ergebnisse nach einer Versuchsdauer von 24 und 120 Stunden lassen sich nicht mit den morphologischen Untersuchungen von SELYE (1957 a) vergleichen, der eine starke antagonistische Wirkung des Schilddrüsenhormons gegenüber AAN nach längerer Verabfolgung fand. Die Tiere erhielten hier 18 Tage lang die beiden Substanzen und wurden am 21. Tage getötet. Bei KHOHALI (1961), der die beiden Substanzen jungen Ratten über 4 Wochen verabfolgte, zeigte sich dieser Antagonismus auch in funktioneller Hinsicht bei der Festigkeitsprüfung von Knochen.

Die bereits von VOGEL (1964) beschriebene zweiphasische Wirkung des l-Trijodthyronin erklärt die scheinbar widersprechenden Befunde. Auch bei den vorliegenden Ergebnissen zeigt l-Trijodthyronin nur nach 24 Stunden eine zusätzliche Depression. Nach 5 Tagen, d.h. zu einem Zeitpunkt, wenn die Wirkung des alleine gegebenen l-Trijodthyronin eben umschlägt, war auch kein Einfluß auf die Nitrilwirkung festzustellen.

b) Thyreoparathyreoidektomie

Von VOGEL (1964) wurde gezeigt, daß durch Thyreoparathyreoidektomie die Festigkeit des Bindegewebes verringert wird. Nach Gabe von AAN an thyreoparathyreoidektomierte

Tiere trat jedoch bei keiner der drei Versuchsserien (24, 72 und 168 Stunden Behandlungsdauer) eine zu erwartende Erhöhung der Belastungsgrenze der Femurepiphysenfuge gegenüber den mit AAN behandelten nicht operierten Tieren auf. Nach den Beobachtungen von SELYE (1957 a), der eine Verstärkung der morphologischen Erscheinungen des Lathyrismus nach Thyreoparathyreoidektomie fand, hätte man im Gegensatz zu den Untersuchungen von VOGEL eine Senkung der Reißfestigkeit erwarten müssen. Offenbar heben sich zwei entgegengesetzte Wirkungen der Thyreoparathyreoidektomie auf die mit AAN behandelten Tiere auf: Der Mangel an Schilddrüsenhormon würde per se die Reißfestigkeit der Epiphysenfuge erhöhen, während er durch die Verschlimmerung der lathyrogenen Veränderungen einen erniedrigenden Einfluß auf die Belastungsgrenze ausübt.

C) Wirkungsmechanismus der lathyrogenen Substanzen

1) Befunde am Kollagen

a) Synthese und Reifung des Kollagens beim unbehandelten Tier

Nach unseren heutigen Vorstellungen findet die Synthese der kleinsten Einheiten des Kollagens, des sogenannten Tropokollagens, in den Fibroblasten, Osteoblasten, Chondroblasten und anderen Zellarten des Bindegewebes statt. Sobald das Tropokollagen in den extrazellulären Raum ausgeschieden wird, lagert es sich zunächst lose zusammen. In dem nun folgenden Reifungsprozeß bilden sich durch intermolekulare Querbindungen (in der angelsächsischen Literatur cross-linking) Fibrillen, aus denen durch Vermehrung der Querbindungen die unlöslichen Kollagenfasern des Bindegewebes entstehen.

Die Entwicklungsphasen vom Tropokollagen bis zu der ausgereiften Kollagenfaser zeichnen sich durch verschiedene

Löslichkeit aus. Tropokollagen und die losen Zusammenlagerungen dieser Untereinheiten lassen sich durch Neutralsalzlösung extrahieren. Nach der Entwicklung zur fibrillären Form ist das Kollagen noch citratlöslich, um dann durch weitere Querbindungen in einen unlöslichen Zustand überzugehen (nach WEST und TODD, Textbook of Biochemistry, 1962 und GROSS, 1959).

Über die Art der Querbindungen ist noch wenig bekannt. Sie sollen jedoch stärker als Wasserstoffbrückenbindungen sein (PIEZ et al., 1961). Die gleichen Autoren fanden bei chromatographischen Untersuchungen, daß das neutralsalzlösliche Kollagen aus zwei Fraktionen, α_1 und α_2 besteht, die sich in ihrer Zusammensetzung geringfügig unterscheiden. Durch Aneinanderlagerung und Querbindungen bildet sich aus diesen Untereinheiten des Kollagens zunächst die citratlösliche β -Fraktion, aus der sich durch weiteres Altern das unlösliche Kollagen bildet.

b) Störungen der Kollagenentwicklung durch lathyrogene Substanzen

Die Synthese des Tropokollagens in der Zelle und die Ausscheidung in den extrazellulären Raum ist offensichtlich nach Vergiftung mit lathyrogenen Substanzen nicht gestört. Da jedoch das "cross-linking", die Ausbildung von Querbindungen, stark gestört ist, kann eine Reifung des Tropokollagens zu unlöslichen Kollagenfasern nicht stattfinden, so daß sich die Menge des unreifen, löslichen Kollagens im Gewebe erhöht.

Während FOLLIS und TOUSIMIS, 1958 und FOLLIS, 1959 schon eine Vermehrung des löslichen Kollagens fanden, wurden genauere Beobachtungen über die oben beschriebenen Störungen der Kollagenfaserbildung von GROSS und LEVENE aufgestellt (GROSS und LEVENE, 1959 und LEVENE und GROSS, 1959). In einigen Arbeiten wird zwar von einer Verringerung der

Kollagensynthese durch lathyrogene Substanzen berichtet (HURLEY und HAM, 1959, ENZINGER und WARNER, 1960), aber durch zahlreiche andere Autoren konnten die genannten Veränderungen grundsätzlich bestätigt werden (DOERR, 1960, DASLER et al., 1961, MARTIN et al., 1961, BOLOGNANI und PONSETI, 1962, GERBER et al., 1962, JASIN und ZIFF, 1962, NIKKARI und KULONEN, 1962, SMILEY et al., 1962, SMITH und SHUSTER, 1962, GROSS, 1963, PECK und DAUGHADAY, 1963).

Die anfänglich vertretene Vorstellung, daß das vermehrt auftretende lösliche Kollagen aus unlöslichen, reifen Kollagenfasern entstehe (LEVENE und GROSS, 1959 und VAN DEN HOOFF, 1959), wurde bei den nachfolgenden Untersuchungen rasch verlassen.

Eine verstärkte Kollagensynthese nach Zuführung von β -Aminopropionitril fanden KULONEN et al., 1960 und KUHN et al., 1964. Letztere berichten gleichzeitig von einem rascheren Abbau der neugebildeten, löslichen Kollagenmoleküle. KUHN und Mitarbeiter glauben, daß bei unbehandelten Tieren das neutralsalzlösliche Kollagen direkt in unlösliches Kollagen übergeht und daß das beim Lathyrismus vorkommende citratlösliche Kollagen keine natürliche Vorstufe der unlöslichen Kollagenfaser sei.

TANZER und GROSS (1964) berichten, daß die lathyrogenen Substanzen Einfluß auf alle Stadien der Kollagenaggregation haben. Die Menge des vermehrten löslichen Kollagens ist altersabhängig (WIRTSCHAFTER und BENTLEY, 1963) und seine Konzentration ist dem Auftreten von Hernien bei Versuchstieren etwa proportional (WIRTSCHAFTER und BENTLEY, 1964).

Durch die Beobachtung, daß die beschriebenen Veränderungen auch in vitro an Knochengewebskulturen auftreten, konnten MARTIN und GOLDBABER (1963) nachweisen, daß die lathyrogenen Substanzen ihre Wirkung direkt am Bindegewebe ausüben.

In welcher Weise das Auftreten der Querbindungen verhindert

wird, ist noch nicht sicher bekannt. Im Augenblick gibt es zwei Hypothesen (nach BICKLEY, 1964): 1) Die lathyrogenen Nitrile verbinden sich mit den Kollagen-Untereinheiten und besetzen dadurch die Stellen, an denen sich normalerweise die intermolekularen Querbindungen ausbilden (LEVENE, 1962, STADLER und STEGEMANN, 1962). 2) Das gleiche Ergebnis könnte auch indirekt über eine Änderung im Zellstoffwechsel oder in der Konzentration oder Zusammensetzung eines stabilisierenden Kohlenhydrats, eines nicht kollagenen Proteinkörpers oder eines Peptids zustande kommen (NIKKARI und KULONEN, 1962, RUBIN et al., 1963).

Es muß jedoch vermerkt werden, daß die Störungen in der Reifung des Kollagens nicht pathognomonisch für den Osteolathyrismus ist, da auch andere Substanzen wie Testosteron (KÜHN et al., 1962), Histamin und Serotonin (LAPIERE, 1962) eine Vermehrung des löslichen Kollagens verursachen können.

Hier sollen auch noch einige Befunde über Veränderungen an den elastischen Fasern aufgeführt werden. BACHHUBER und LALICH (1955 a) und WALKER und WIRTSCHAFTER (1956) beschrieben eine Zersetzung und Resorption der elastischen Fasern mit Unterbrechung der Kontinuität, ebenso eine quantitative Verringerung der Fasern in Anzahl und Größe, die von einer gleichzeitigen Fibroblastenproliferation begleitet war.

2) Veränderung an der Grundsubstanz des Bindegewebes beim experimentellen Lathyrismus

Da schon seit geraumer Zeit die Mitwirkung der Zwischensubstanz des Bindegewebes bei der Reifung der Kollagenfasern diskutiert wird, sind auch im Rahmen des experimentellen Lathyrismus zahlreiche Untersuchungen über dieses Gebiet gemacht worden, die teilweise widersprechende Befunde brachten. PONSETI und SHEPARD (1954), BEAN und PONSETI (1955), GARDNER (1958), LEVENE und GROSS (1959) und VAN DEN HOOFF et al. (1959) glauben, daß die lathyrogenen Substanzen Veränderungen im Stoffwechsel der Grundsubstanz verursachen,

die mit der verminderten Fähigkeit des Kollagens, reife Fasern zu bilden, zusammenhängen.

Bei Untersuchungen an der Rattenhaut konnten GRANT et al. (1960) nach Behandlung mit einer lathyrogenen Substanz keine Änderung im Mucopolysaccharid-Gehalt feststellen, während NIKKARI und AULONEN in dem gereinigten löslichen Kollagen der Haut weniger Kohlenhydrat fanden als bei den Kontrolltieren.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit, wo wir vor allem die Reißfestigkeit der Epiphysenfuge untersuchten, sind besonders Befunde über Veränderungen in der Grundsubstanz des Epiphysenknorpels von Bedeutung. Während einige Autoren von einer Abnahme des Hexosamingehaltes berichten (CASTELLANI und CASTELLANI-BISI, 1958, PEDRINI und PEDRINI-MILLE, 1959), fanden KARNOVSKY und KARNOVSKY (1961) keinen Unterschied zur Kontrolle. BOLOGNANI und LANERI (1961) konnten zeigen, daß der Sialinsäuregehalt im Epiphysenknorpel von AAN behandelten Ratten abnahm.

GABY et al. (1961) fanden eine verstärkte Mucopolysaccharid-Produktion unter MAAN.

Eine sehr deutliche Veränderung beim experimentellen Lathyrismus stellt die Vermehrung der Mucopolysaccharide in der Media der Aorta dar (CHURCHILL et al., 1955, WALKER und WIRTSCHAFTER, 1956, GRANT et al., 1960, LALICH et al., 1961 u.a.). Da jedoch die Anhäufung von Polysacchariden eine Antwort der Aortenmedia auf zahlreiche ganz verschiedene Reize darstellt, scheint das Phänomen für die Aorta charakteristischer zu sein als für den Lathyrismus (BURMAN, 1961).

Untersuchungen mit radioaktivem Schwefel, die die Veränderungen im Chondroitinschwefelsäure-Stoffwechsel klären sollten, brachten teilweise widersprechende Befunde. Teils wurde in vivo nach Applikation von lathyrogenen Substanzen

die Aufnahme von Radiosulfat erniedrigt (KARNOVSKY und KARNOVSKY, 1961, SHINTANI und TAYLOR, 1962 a, AKAMATSU und TAKAHASHI, 1964), teils war kein Unterschied zur Kontrolle festzustellen (PONSETI et al., 1956, ENGFELDT et al., 1960 und 1961). Die Befunde von BAUER et al. (1955), die eine Erhöhung der S^{35} -Aufnahme fanden, wurden von BÉLANGER bestätigt.

Am Frakturkallus der Ratte wurde unter der Benandlung mit lathyrogenen Substanzen eine verringerte Aufnahme von Radioschwefel beobachtet (KOWALEWSKI et al., 1959, KOWALEWSKI und EMERY, 1960).

Bei invitro-Untersuchungen fanden KARNOVSKY und KARNOVSKY (1961) und SHINTANI und TAYLOR (1962) eine verminderte Sulfataufnahme unter lathyrogenen Substanzen. FECK et al. (1963) konnten diese Beobachtungen nur unter hohen Dosen bestätigen, wogegen geringe Konzentrationen von β -Aminopropionitril, die schon die Reifung des Kollagens zu unlöslichen Fasern verhinderten, keine Wirkung auf die Radiosulfataufnahme hatten.

Die uneinheitlichen Befunde lassen keinen sicheren Schluss zu, ob die Erscheinungen des experimentellen Lathyrismus auf eine Störung im Stoffwechsel der Grundsubstanz zurückgehen.

3) Unsere Befunde im Hinblick auf die gestörte Kollagenreifung beim experimentellen Lathyrismus

Daß bei jungen Tieren die Veränderungen des Lathyrismus rascher und deutlicher in Erscheinung treten als bei älteren oder schon ausgewachsenen Tieren, läßt sich durch die Kollagenreifungsstörung gut erklären. Da bei älteren Tieren, bei denen die Wachstumsvorgänge nahezu abgeschlossen sind, weniger Kollagen neu entsteht, tritt die mangelnde Fähigkeit des Kollagens, durch Querbindungen unlosliche Fasern zu bilden, nicht so sehr in Erscheinung. Auf diese

Weise erklären sich auch die Unterschiede zwischen unseren Reißfestigkeitsprüfungen der Aorta und den Befunden anderer Autoren, die wesentlich jüngere Tiere verwendeten.

Da wir jedoch an der isolierten Rattenschwanzsehne eine deutliche Festigkeitsminderung unter AAN fanden, weisen unsere Befunde darauf hin, daß die in der Aorta im überwiegenden Maße vorhandenen elastischen Fasern durch die lathyrogene Substanz weniger stark verändert werden als das an Kollagenfasern reiche Sehngewebe.

Die Reifungsstörungen des Kollagens begründen die besondere Empfindlichkeit der Epiphysenfuge als Modell zur Festigkeitsprüfung des Bindegewebes. In den beiden Epiphysenfugen findet das gesamte Längenwachstum eines Röhrenknochens statt. Während des Wachstums ist an diesen beiden Stellen die Kollagensynthese sehr ausgeprägt. Da die lathyrogenen Substanzen jedoch verhindern, daß sich das Kollagen zu funktionstüchtigen Fasern umbildet, häuft sich in der Epiphysenzone rasch das funktionell minderwertige Kollagen an, wodurch die Festigkeit des Gewebes herabgesetzt wird.

Bei unseren Untersuchungen fanden wir, daß nach kurzer Verabfolgungsdauer von 24 und 48 Stunden das Minimum der Belastungsgrenze der Femurepiphysenfuge nach 1000 mg/kg AAN täglich erreicht war. Bei weiterer Erhöhung der Dosierung auf 3100 mg/kg täglich stieg die Reißfestigkeit wieder deutlich gegenüber dem tiefsten Wert bei 1000 mg/kg an. Dieser auffällige Befund läßt sich nicht ohne weiteres erklären. Es wäre denkbar, daß die extrem hohe Dosis durch Schädigung der Bindegewebszellen die Kollagensynthese so stark einschränkt, daß das lösliche Kollagen in geringerem Maße angehäuft wird und daher keine so starke Wirkung auf die Reißfestigkeitsminderung zeigt.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Das Binde- und Stützgewebe von jungen Ratten, denen wir lathyrogene Substanzen verabfolgten, wurde mit physikalisch-mechanischen Methoden untersucht. Bei Versuchen mit Hormonen wurde eine Methode entwickelt, auf einfache Art die funktionellen Veränderungen des Bindegewebes quantitativ zu bestimmen. Belastet man den Femur der Ratte in Längsrichtung, so reißt er immer an der distalen Femurepiphyse.

Von drei lathyrogenen Substanzen, Aminoacetonitril (AAN), Methylaminoacetonitril (MAAN) und β,β' -Imino- α -propionitril (IDPN) wurden Dosenwirkungskurven und Zeitwirkungskurven angefertigt.

Bei den Prüfungen der Reißfestigkeit der Femurepiphyse junger Ratten fanden wir nach 24 Stunden für AAN und MAAN schon unter einer Dosierung von 31 mg/kg und für IDPN ab 100 mg/kg eine signifikante Senkung der Belastungsgrenze. Dagegen lassen sich bei 100 g schweren Tieren morphologisch und klinisch erst nach mehreren Tagen die Veränderungen des experimentellen Lathyrismus feststellen.

AAN senkte nach 24 Stunden die Reißfestigkeit stärker als MAAN, während nach 120 Stunden die Wirkung von MAAN gegenüber AAN überwog. IDPN zeigte von den drei geprüften Nitrilen bei allen Untersuchungen die geringste Wirkung.

In Kombinationsversuchen untersuchten wir die Beeinflussung der Funktion des Bindegewebes durch gleichzeitige Gabe von Hormonen. Wachstumshormon verstärkte die durch AAN hervorgerufene Erniedrigung der Femurbelastungsgrenze.

Corticosteroide zeigen eine antagonistische Wirkung. Nach 24 Stunden wurden durch 5 mg/kg Prednisolonacetat, das eine rund viermal stärkere Wirkung als Cortisol besitzt, die Wirkung der drei Nitrile, die in Dosen von 100 und 1000 mg/kg verabfolgt wurden, nahezu aufgehoben. Noch deutlicher zeigte sich der Antagonismus nach 240 Stunden, wobei täglich 10 und 100 mg/kg der Nitrile zusammen mit 5 mg/kg Prednisolon-

acetat appliziert wurde. Entsprechend zu diesen Befunden war bei adrenalectomierten Tieren eine Verstärkung des Senkungseffektes von AAN zu finden.

Schilddrüsenhormon verursacht, wenn es nur wenige Male verabfolgt wird, eine Abnahme der Festigkeit von Bindegewebe. Gleichzeitig mit AAN einmal gegeben, bewirkte l-Trigodthyronin eine entsprechende zusätzliche Erniedrigung der Belastungsgrenze der Femurepiphyse. Die Thyreoparathyreoidektomie, welche per se die Reißfestigkeit erhöht, zeigte keinen zusätzlichen Einfluß auf die Festigkeit der Epiphysenfuge von mit AAN behandelten Ratten.

An der isolierten Rattenschwanzsehne trat nach 240 Stunden ab einer Konzentration von 10 mg/kg AAN täglich eine signifikante Senkung der Belastungsgrenze auf.

Die Reißfestigkeit von Aortenringen 100 bis 120 g schwerer Ratten zeigte nach 1, 2, 5 und 10-maliger Behandlung mit lathyrogenen Substanzen keine signifikante Erniedrigung.

Nach den vorliegenden Untersuchungen sind Festigkeitsmessungen am Bindegewebe dazu geeignet:

- a) frühzeitig den Einfluß lathyrogener Substanzen zu zeigen
- b) quantitative Vergleiche zu ermöglichen
- c) den Einfluß hemmender und fördernder Faktoren zu erfassen.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. AKAMATSU, Y. and TAKAHASHI, M., Lathyrism of mice. Arch. Path. 78, 61-65 (1964).
2. BACHHUBER, T. E. and LALICH, J. J., Effect of sweet meal on the rat aorta. A. M. A. Arch. Path. 59, 247 (1955 a).
3. BACHHUBER, T. E., LALICH, J. J., ANGEVINE, D. M., SCHILLING, E. D. and STRONG, F. M., Lathyrus factor activity of beta-aminopropionitrile and related compounds. P.S.E.B.M. 89, 294 (1955 b).
4. BARNETT, B. D., BIRD, H. R., LALICH, J. J. and STRONG, F. M., Toxicity of β -aminopropionitrile for turkey poult. P.S.E.B.M. 94, 67-70 (1957).
5. BAUER, G. C. H., CARLSSON, A. and LINDQUIST, B., Skeletal uptake of sulfate and phosphate in β -aminopropionitrile poisoned rats. Acta path. microbiol. Scand. 37, 407-413 (1955).
6. BEAN, W. and PONSETI, I. V., Dissecting aneurysm produced by diet. Circulation 12, 185 (1955).
7. BELANGER, L. F., Autoradiographic studies of sulfated mucopolysaccharide metabolism in cartilage of osteolathyrus rats and chicks. P.S.E.B.M. 99, 605-607 (1958).
8. BELL, G. H. and SCHARMA, D. N., Quantitative effects of β -aminopropionitrile on bone growth, J. Physiol. (London) 154, 46 P (1960).
9. BICKLEY, H., Experimental lathyrism: apparent antithesis of aging in connective tissue. J. Am. Geriatrics Soc. 12, 717-730 (1964).
10. BIGGERS, J. D. and SCHRYVER, H. F., The relative activity of lathyrogenic agents examined in organ cultures of embryonic chick tibiotarsi. J. Pharmacol. Exp. Ther., 145, 222-231 (1964).
11. BOLOGNANI, L. and LANERI, A. V., Decrease of sialic acid in epiphyseal plates of aminoacetone-nitrile-treated rabbits. P.S.E.B.M. 108, 111-112 (1961).
12. BOLOGNANI, L. and PONSETI, I. V., Extractable collagens in the fracture callus of normal and aminoacetone-nitrile-treated rats. P.S.E.B.M. 109, 509-510 (1962).
13. BORLE, A. B., KARNOVSKY, M. J. and NICHOLS, G. jr., Changes in inorganic composition of tissues in experimental osteolathyrism. Amer.J. Physiol. 197, 1224-1228 (1959).

14. BOULEY, Discussion sur le lathyrisme médullaire spasmodique. Bull. Acad. de Med. (Paris) 12, 866 (1803) (zit. nach SELYE, 1957 b).
15. BURMAN, S. O., Medial degeneration and its relation to dissecting aneurysms. Surg., Gynec. Obstet. 110, 1-8 (1961).
16. CANTANI, A., Latirismo (Lathyrismus) illustrata de tre casi clinici. Il Morgagni 15, 745 (1873) (zit. nach SELYE, 1957 b).
17. CASTELLANI, A. A. and CASTELLANI-BISI, C., Decrease in hexosamine content of epiphyseal plates in experimental lathyrism. P.S.E.B.M. 98, 318-320 (1958).
18. CHANG, C. Y., WITSCHI, E. and PONSETI, I. V., Teratogenic effects of lathyrus odoratus seeds on development and regeneration of vertebrate limbs. P.S.E.B.M. 90, 45 (1955).
19. CHURCHILL, D. W., GELFANT, S., LALICH, J. J. and ANGEVINE, D. M., Alterations in the polysaccharides and elastic fibers in the aorta of rats fed toxic lathyrus factor. Lab. Invest. 4, 1 (1955).
20. CLEMMONS, J. J. and ANGEVINE, D. M., The occurrence of multiple fractures in suckling rats injected with B-aminopropionitril (lathyrusfactor). Am. J. Path. 33, 175-185 (1957).
21. DASLER, W., STONER, R. E. and MILLISER, R. V., Effect of osteolathyrism on soluble collagen fractions of rat connective tissue. Metabolism 10, 883-887 (1961).
22. DOERR, W., Experimenteller Lathyrismus. Verh. d. Dtsch. Ges. f. Path. 44. Tagung, 145-151 (1960).
23. DON, General system of gardening and botany, London, 4 vols. (1831-38) (zit. nach SELYE, 1957 b).
24. DUPUY, H. P. and LEE, J. G., The isolation of a material capable of producing experimental lathyrism. J. Am. Pharm. Ass. (Sient. Ed.) 43, 61 (1954).
25. ENGFELDT, B., TEGNER, B. and BERGQUIST, E., Early changes in the epiphyseal growth zone in experimental osteolathyrism. Acta path. Scand. 49, 39-54 (1960).
26. ENGFELDT, B., TEGNER, B. and BERGQUIST, E., Studies on epiphysial cartilage in osteolathyrism. Acta path. et microbiol. Scand. 144, 51, 47-48 (1961).
27. ENZINGER, F. M. and WARNER, E. D., Experimental lathyrism. Effect of aminoacetonitrile on connective tissue formation in adult rats. A. M. A. Arch. Path. 69, 333 (1960).

28. FOLLIS, R. H. jr. and TOUSIMIS, A. J., Experimental lathyrism in the rat. Nature of defect in epiphyseal cartilage. P.S.E.B.M. 98, 843-848 (1958).
29. FOLLIS, R. H. jr., Spontaneous hemorrhage induced by administration of aminoacetonitrile and papain or anticoagulants to rats. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 102, 114-118 (1959).
30. GARAY, S., VIVANCO, F., RAMOS, F. and DIAZ, C. J., Influence of dl-thyroxine and cortisone on femurs of rats with odoratism. Arch. Biochem. Biophys. 92, 87-93 (1961).
31. GARBUTT, J. T. and STRONG, F. W., A colorimetric determination of β -aminopropionitrile in legumes. 128. Meet. Am. Chem. Soc. (Minneapolis, Sept. 11-16) p. 26 A (1955).
32. GARDNER, A. F., Production of bone lathyrism by *Lathyrus odoratus* and beta substituted ethylamines. Rev. canad. Biol. 17, 420-441 (1956).
33. GEIGER, b. J., STEENBOCK, H. and FARSONS, H. T. Lathyrismus in the rat. J. Nutrition 6, 427 (1933).
34. GERBER, G. B., GERBER, G. and ALTMANN, K. I., Studies of collagen turnover in lathyrotic rats. Arch. Biochem. Biophys. 96, 601-604 (1962).
35. GRANT, R. A., HATHORN, M. and GILLMANN, T., Aortic, serum, connective tissue and osseous chemistry in lathyrotic rats. Nature 186, 164-165 (1960).
36. GROSS, J., On the significance of soluble collagens, in connective tissue, thrombosis and atherosclerosis, ed by I. H. Page, Academic Press Inc. New York and London (1959).
37. GROSS, J. and LEVENE, C. I., Effect of β -aminopropionitrile on the extractability of collagen from skin of mature guinea pigs. Am. J. Path. 35, 687-688 (1959).
38. GROSS, J., LEVENE, C. I. and ORLOFF, Fragility and extractable collagen in the lathyrotic chick embryo. An assay for lathyrogenic agents. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 105, 148-151 (1960).
39. GROSS, J., An intermolecular defect of collagen in experimental lathyrism. Biochim. Biophys. Acta 71, 250-252 (1963).
40. HARTMANN, H. A. and STICH, H. F., Psychopathologic symptoms induced by bis-beta-aminopropionitrile. Science 125, 445 (1957).
41. VAN DEN HOOFF, A., LEVENE, C. I. and GROSS, J., Morphologic evidence for collagen changes in chick embryos treated with β -aminopropionitrile. J. Exp. Med. 110, 1017 (1959).

42. HURLEY, J. V. and HAM, K. N., The nature of the connective tissue defect produced by the amino-nitriles. *Brit. J. Exper. Path.* 40, 216 (1959).
43. JASIN, H. E. and ZIFF, M., Relationship between soluble collagen and urinary hydroxyproline in the lathyratic rat. *F.S.E.B.M.* 110, 837-841 (1962).
44. KARNOVSKY, J. and KARNOVSKY, M. L., Metabolic effects of lathyrogenic agents on cartilage in vivo and in vitro. *J. Exp. Med.* 113, 381-403 (1961).
45. KHOGLI, A., Quantitative studies on the suppression of the skeletal lesions of β -aminopropionitrile by l- and d-triiodothyronine. *Physiol. (London)* 158, 29F-30P (1961).
46. KOWALEWSKI, K., COUVES, C. M. and LANG, A., Protective action of 17-ethyl-19-nortestosterone against the inhibition of bone repair in the lathyrus-fed rat. *Acta endocr.* 30, 268-272 (1959).
47. KOWALEWSKI, K. and EMERY, M. A., Effect of a lathyrus factor and of an anabolic steroid on healing of fractures in rats. studied by S^{35} -uptake method. *Acta endocrin.* 34, 317-322 (1960).
48. KÜHN, K., DERMTI, M., IWANGOFF, P., HAMMERSTEIN, F., STECHER, K., HOLZMANN, H. und KORTING, G. W., Untersuchungen über den Stoffwechsel des Kollagens. I. Der Einbau von (146) Glycin in Kollagen bei lathyritischen Ratten. *Hoppe Seylers Z. phys. Chem.* 336 (1964).
49. KÜHN, K., HOLZMANN, H. and KORTING, G. W., Quantitative determination of the first formed soluble collagen after application of several connective tissue therapeutic agents. *Naturwiss.* 49, 134 (1962).
50. KULONEN, E., SALMI, A. and JUVA, K., Experiments on the metabolism of collagen in lathyrism. *Biochem. J.* 76, 54p (1960).
51. LALICH, J. J., WIRKA, H. W., jr. and ANGEVINE, C. D., Influence of β -aminopropionitrile feeding on collagen synthesis in rat aortas. *Path. et Microbiol. (Basel)* 24, 140-147 (1961).
52. LAPIERE, C. M., Effect of repeated local injections of histamine and of 5-hydroxytryptamine on the composition of newly formed connective tissue in the rat. *Compt. rend. Soc. biol.* 155, 1611-1612 (1961).
53. LEATHER and SONS, J., Lathyrus poisoning in horses. *Vet. J. and Ann. Comp. Path.* 20, 233 (1885) (zit. nach SELYE, 1957 b).
54. LEVENE, C. I. and GROSS, J., Alterations in state of molecular aggregation of collagen induced in chick embryos by β -aminopropionitrile (lathyrus factor). *J. Exp. Med.* 110, 771 (1959).

55. LEVENE, C. I., Collagen as a tensile component in the developing chick aorta. *Brit. J. Exp. Path.* 42, 89-94 (1961).
56. LEVENE, C. I., Studies on the mode of action of lathyrogenic compounds. *J. Exp. Med.* 116, 119-130 (1962).
57. LEWIS, H. B., FAJANS, R. S., ESTERER, M. B., SHEN, C. W. and OLIPHANT, M., The nutritive value of some legumes. Lathyrism in the rat. The sweet pea (*Lathyrus odoratus*), *Lathyrus sativus*, *Lathyrus cicera* and some other species of *Lathyrus*. *J. Nutrition* 36, 537 (1948).
58. LYKKE, A. W. J., MÜLLER, H. K. and ROBERTSON, J. S., Effects of hexamethonium bromide and β -aminopropionitrile on the tensile strength of the aorta of mice. *Nature (Lond.)* 188, 238 - 239 (1960).
59. MARTIN, G. R., GROSS, J., PIEZ, K. A. and LEWIS, M. S., On the intramolecular cross-linking of collagen in lathyritic rats. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* 53, 599-601 (1961).
60. MARTIN, G. A. and GOLDBABER, P., Action of aminoacetone nitrile on bone collagen in tissue culture. *Biochim. Biophys. Acta* 69, 569 (1963).
61. MCRAE, G. F., LALICH, J. J., SCHILLING, E. D. and STRONG, F. M., A crystalline "Lathyrus factor" from *Lathyrus odoratus*. *Arch. Biochem.* 52, 313 (1954).
62. NIKKARI, T. and KULONEN, E., Studies in experimental lathyrism I. Non-collagen components of tissues. *Chemical Pharmacol.* 11, 923-929 (1962 a).
63. NIKKARI, T. and KULONEN, E., Studies in experimental lathyrism II. On the properties of collagen. *Biochem. Pharmacol.* 11, 931-936 (1962 b).
64. PECK, W. A. and DAUGHADAY, W. H. Demonstration of impaired collagen aggregation in isolated rat cartilage induced by β -aminopropionitrile. *Fed. Proc.* 22, 964 (1963 a).
65. PECK, W. A., MARIZ, I. and DAUGHADAY, W. H., Inhibition of collagen aggregation in rat cartilage induced by β -aminopropionitrile in vitro. *J. Lab. Clin. Med.* 62, 407-415 (1963 b).
66. PEDRINI, V. and PEDRINI-MILLE, A., Decrease of enzymatic synthesis of hexosamine in epiphyseal plates of aminoacetone nitrile-treated rabbits. *P.S.E.B.M.* 101, 358-360 (1959).
67. PIEZ, K. A., LEWIS, M. S., MARTIN, G. R. and GROSS, J., Subunits of the collagen molecule. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* 53, 596-598 (1961).

68. PONSETI, I. V. and BAIRD, W. A. Scoliosis and dissecting aneurysm of the aorta in rats fed with lathyrus odoratus seeds. *Am. J. Path.* 28, 1059-1077 (1952).
69. PONSETI, I. V. and SHEPARD, R. S., Lesions of the skeleton and of other mesodermal tissues in rats fed sweet pea (*Lathyrus odoratus*) seeds. *J. Bone and Joint Surg.* 36A, 1031 (1954).
70. PONSETI, I. V., WAWZONEK, S., SHEPARD, R. S., EVANS, T. C. and STEARNS, G., Further studies on lathyrism in the rat. *P.S.E.B.M.* 92, 366-369 (1956).
71. PYÖRÄLÄ, K., SEPPÄLÄ, T. und PUNSAR, S., Aorten- und Knochenveränderungen beim Rattenfötus verursacht durch Fütterung von Lathyrus-Samen an Muttertiere. *Acta path. microbiol. Scand.* 38, 273-284 (1956).
72. RUBIN, A. L., PFAHL, D., SPEAKMAN, P. T., DAVISON, P. F. and SCHMITT, F. P., Tropocollagen: significance of protease-induced alterations. *Science* 139, 37-38 (1963).
73. SCHILLING, E. D. and STRONG, F. M., Isolation structure and synthesis of a lathyrus factor from *L. odoratus*. *J. Am. Chem. Soc.* 76, 2848 (1954).
74. SCHILLING, E. D. and STRONG, F. M., Isolation, structure and synthesis of a lathyrus factor from *L. odoratus*. *J. Am. Chem. Soc.* 77, 2843 (1955).
75. SELYE, H. and BOIS, P., Effect des hormones adaptives sur le lathyrisme expérimental du rat. *ACFAS*, 24e congrès, Montréal 2-4 nov. (1956).
76. SELYE, H., Über die humorale Beeinflussung des experimentellen Lathyrismus. *Arch. f. exper. Path. u. Pharmacol.* 230, 155 (1957 a).
77. SELYE, H., Lathyrism. *Rev. canad. biol.* 16, 3-82 (1957 b).
78. SHINTANI, Y. K. and TAYLOR, H. E., Radioautographic study of $S^{35}O_4$ uptake by epiphyseal cartilage in experimental lathyrism. *Canad. J. Biochem. Physiol.* 40, 565-570 (1962 a).
79. SHINTANI, Y. K. and TAYLOR, H. E., The effect in vitro of lathyrogens on the uptake of radiosulfate by epiphyseal cartilage. *Lab. Invest.* 11, 697-702 (1962 b).
80. SHOURIE, K. L., An outbreak of lathyrism in Central India. *Indian J. M. Research* 33, 239 (1945).
81. SMILEY, J. D., YEAGER, H. and ZIFF, M., Collagen metabolism in osteolathyrism in chick embryos: site of action of β -aminopropionitrile. *J. Exp. Med.* 116, 45-54 (1962).

82. SMITH, D. J. and SHUSTER, R. C., Biochemistry of lathyrism. I. Collagen biosynthesis in normal and lathyrotic chick embryos. *Arch. Biochem. Biophys.* 98, 498-501 (1962).
83. STADLER, K. und STEGEMANN, H., Einbau von β -amino-propionitril in die Kollagenmolekel beim Lathyrismus der Ratte. *Naturwiss.* 49, 398-399 (1962).
84. STALLER, F. W., Reproduction in rats fed "Lathyrus" peas or aminonitriles. *P.S.E.B.M.* 90, 294 (1955).
85. STOCKMAN, R., Lathyrism. *Edinburgh M. J.* 19, 277 (1917) (zit. nach SELYE, 1957 b).
86. STOCKMAN, R., Lathyrism. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 37, 43 (1929) (zit. nach SELYE 1957 b).
87. STOCKMAN, R. and JOHNSTON, J. M., Cereal food poisoning and its relation to the etiology of pellagra. *J. Hyg.* 33, 204 (1933).
88. STRONG, F. M., Lathyrism and odoratism. *Nutrition Rev.* 14, 65-67 (1956).
89. TANZER, M. L. and GROSS, J., Collagen metabolism in the normal and lathyrotic chick. *J. Exp. Med.* 119, 275-289 (1964).
90. THER, L., SCHRÄMM, H. und VOGEL, G. Über die antagonistische Wirkung von Trijodthyronin und Progesteron auf den Prednisoloneffekt am Epiphyseknorpel (Prüfung der Reißfestigkeit) *Acta endocrin.* 42, 29-38 (1963).
91. TRNAVSKÁ, Z. and TRNAVSKÝ, K., Chemical contraction and relaxation of collagen fibres in rats with experimental lathyrism. *Med. Exp.* 9, 41-45 (1963).
92. VILJANTO, J., ISOMAKI, I. and KULONEN, E., Effect of aminoacetonitrile, iproniazid and semicarbazide on the tensile strength of experimental granulation tissue. *Acta pharm. toxicol.* 19, 191-198 (1962).
93. VIVANCO, F. and JIMÉNEZ-DÍAS, C., Nuevos estudios sobre los efectos de las proteínas de las legumbres (Leguminismos). El latirismo odorato (Odoratismo). *Rev. clin. españ.* 40, 157 (1951) (zit. nach SELYE, 1957 b).
94. VOGEL, G. und THER, L., Untersuchungen über den Einfluß endokriner Faktoren auf die Reißfestigkeit bindegewebiger Strukturen. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* 246, 72 (1963 a).
95. VOGEL, G. und THER, L. Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Hormonen auf physikalische Eigenschaften von Knochen. *Verhandl. der Deutschen Ges. Pathol.* 47. Tagung (1963 b).

96. VOGEL, G., Veränderungen der mechanischen Eigenschaften des Bindegewebes unter dem Einfluß von Hormonen.
11. Symposium der Deutschen Ges. Endokrinol., Düsseldorf 1964; Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg, New York.
97. VOGEL, G. und THER, L., Über den Einfluß von einigen Hormonen auf mechanisch-physikalische Eigenschaften des Binde- und Stützgewebes. Anatom. Anzeiger, im Druck.
Vortrag auf der 60. Tagung der Deutschen Ges. Anatomie Wien 1964.
98. WALKER, D. G. and WIRTSCHAFTER, Z. T., Histopathogenesis of aortic aneurysms in the lathyrus-fed rat. A.M.A. Arch. Path. 61, 125-135 (1956).
99. WAWZONEK, S., PONSETI, I. V., SHEPARD, R. S. and WIEDENMANN, L. G., Epiphyseal plate lesions and dissecting aneurysm of the aorta produced by aminonitriles. Science 121, 63 (1955).
100. WEST and TODD, Textbook of Biochemistry. The MacMillan Company, New York 1188-1189 (1962).
101. WIRTSCHAFTER, Z. T. and BENTLEY, J. P., Extractable collagen of normal and lathyrus-fed rats. J.A.M.A. 183, 869-870 (1963).
102. WIRTSCHAFTER, Z. T. and BENTLEY, J. P., Hernias as a collagen maturation. Ann. Surg. 160, 852-859 (1964).
103. YOUNG, T. C. Mc C., A field study of lathyrism. Indian J. M. Research 15, 453 (1927-28) (zit. nach SELYE 1957 b).

LEBENS LAUF

Am 16.1.1939 wurde ich als zweiter Sohn des Dr. rer. pol. Paul Reuff und seiner Ehefrau Emma geb. Büttner zu Frankfurt am Main geboren. Nach dem Besuch der Fraunheimer Volksschule wechselte ich 1950 in das Liebig-Realgymnasium über, wo ich 1959 mein Abitur machte. Im gleichen Jahr wurde ich in Frankfurt am Main in der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität immatrikuliert. Während des Sommersemesters 1960 studierte ich in Freiburg i.Br. Seit dem Wintersemester 1960/61 bin ich wieder an der Frankfurter Universität eingeschrieben und habe mich jetzt zum Staatsexamen gemeldet.

Frankfurt am Main, den 25.6.1965

Roland Reuff

Verzeichnis meiner akademischen Lehrer:

Prof. Dr.med.W.Amelung	Innere Medizin
Prof.Dr.med.,Dr.med.dent.,Dr.phil.W.Artelt	Geschichte d.M.
Prof.Dr.med.H.Betke	Hygiene
Prof.Dr.med.H.Cramer	Frauenheilkunde
Prof.Dr.phil.M.Czerny	Physik
Privatdozent Dr.med.R.Degkwitz	Psychiatrie und Neurologie
Prof.Dr.med.P.Duus	Psychiatrie und Neurologie
Prof.Dr.phil.nat.K.Egle	Botanik
Prof.Dr.med.H.Frick	Anatomie
Prof.Dr.med.R.Geißendörfer	Chirurgie
Prof.Dr.med.J.Gerchow	Gerichtsmedizin
Prof.Dr.phil.H.Giersberg	Zoologie
Prof.Dr.med.O.Grüner	Gerichtsmedizin
Prof.Dr.med.E.Güntz	Orthopädie
Prof.Dr.rer.nat.W.Halbsguth	Botanik
Prof.Dr.med.E.Heinz	Physiologische Chemie
Prof.Dr.med.F.Herrmann	Dermatologie
Prof.Dr.med.K.Herzberg	Hygiene und Bakteriologie
Privatdozent Dr.med.H.H.Hirsch	Chirurgie
Prof.Dr.med.F.Hoff	Innere Medizin
Prof.Dr.med.P.Holtz	Pharmakologie
Prof.Dr.med.G.Kahlau	Pathologie
Prof.Dr.med.O.Käser	Frauenheilkunde
Prof.Dr.med.C.Kulenkampff	Psychiatrie und Neurologie
Prof.Dr.med.H.Lapp	Pathologie
Prof.Dr.med.G.Leonhardi	Dermatologie
Prof.Dr.med.K.Luif	Gerichtsmedizin
Prof.Dr.med.Maske	Therapeutische Biochemie
Prof.Dr.med.R.Mittermaier	Hals-,Nasen-,Ohrenheilkunde
Prof.Dr.rer.nat.H.A.Müser	Physik
Prof.Dr.med. R.Ortmann	Anatomie

Privatdozent Dr.med.J.E.Otto	Augenheilkunde
Prof.Dr.med.G.Rossberg	Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde
Prof.Dr.med.W.Rotter	Pathologie
Prof.Dr.phil.nat.F.Royen	Chemie
Privatdozent Dr.med.O.Schmith	Sozialhygiene
Prof.Dr.med.A.W.Schwenzer	Frauenheilkunde
Prof.Dr.med.D.Starck	Anatomie
Prof.Dr.med.R.Thiel	Augenheilkunde
Prof.Dr.med.E.Ungeheuer	Chirurgie
Prof.Dr.rer.nat.A.Wacker	Therapeutische Biochemie
Prof.Dr.med.K.Weibe	Kinderheilkunde
Prof.Dr.med.K.Wezler	Physiologie
Prof.Dr.phil.Th.Wieland	Chemie
Prof.Dr.med.H.Zimmermann	Pathologie
Prof.Dr.med.J.Zutt	Psychiatrie und Neurologie

Meine akademischen Lehrer in Freiburg i.Br.:

Prof.Dr.med.Derwort	Medizinische Psychologie
Prof.Dr.med.Keller	Anatomie
Doz.Dr.med.Puff	Röntgenanatomie

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwortlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel "Zur Frage des experimentellen Lathyriasmus; Festigkeitsmessungen am Binde- und Stützgewebe nach Behandlung mit latnyrogenen Substanzen" im Endokrinologischen Laboratorium der Pharmakologischen Forschungsabteilung der Farbwerke Höchst AG. unter Leitung von Prof. Dr. med. H. Maske durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 10.10.1965

Roland Ratt

